

Aus der
Klinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten
der Westdeutschen Kieferklinik der Universität Düsseldorf

Direktor: Professor Doktor Franz Schübel

Das biologische Verhalten von Dental-Silber-Amalgamen

Eine Studie der Literatur von Testmethoden
und Ergebnissen im Vergleich zu Vorschlägen
zur Standardisierung von Testverfahren.
Beurteilung der Korrelation von in vitro
und in vivo Tests und Befunden.

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnmedizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von Volker Kracht

1983

Aus der
Klinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten
der Westdeutschen Kieferklinik der Universität Düsseldorf

Direktor: Professor Doktor Franz Schübel

DAS BIOLOGISCHE VERHALTEN VON
DENTAL-SILBER-AMALGAMEN

Eine Studie der Literatur von Testmethoden
und Ergebnissen im Vergleich zu Vorschlägen
zur Standardisierung von Testverfahren.
Beurteilung der Korrelation von in vitro
und in vivo Tests und Befunden

DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnmedizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Volker Kracht

1983

Herrn Professor Dr. Rehberg
danke ich herzlich für die Überlassung des Themas,
für die wertvollen Anregungen und für die
freundliche Betreuung bei der Fertigstellung
der Arbeit.

gez.: Volker Kracht

"Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf"

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

gez.: Prof.Dr. H.Th. Brüster

Referent

gez.: Prof.Dr. H.J. Rehberg

Korreferent

gez.: Prof.Dr. H. Böttger

I	Einleitung	
1	Einführung	1
2	Darstellung der eigenen Aufgabe	2
II	Allgemeiner Teil	
1.0	Beschreibung des Füllmaterials Amalgam	3
1.1	Historie	3
1.2	Legierungen / Alloys	4
1.3	Quecksilber	7
1.4	Amalgame	9
1.4.1	Verarbeitung	9
1.4.2	Konventionelle Amalgame	9
1.4.3	γ^2 -freie Amalgame	9
1.4.4	Dosierung und Trituration	10
1.5	Quecksilberdampfbelastungen	10
1.5.1	MAK-Wert	10
1.5.2	Hg-Kontamination bei ZA Tätigkeiten	11
1.5.3	Umweltbelastung mit Hg Aufnahme durch Luft und Nahrung	12
1.5.4	Vergleich mit Hg Belastung durch Amalgam Füllungen	13
1.5.5	Allergisierende Wirkung	14
1.6	Elektrochemische Reaktion (Korrosion)	15
III	Biologische Testmethoden	18
1.0	Probleme der Untersuchung zahnärztlicher Füllungsmaterialien	18
2.0	Stand der derzeitig bestehenden und im Entwurf befindlichen Spezifikationen	20

2.1	Normierungsbemühungen	20
2.2	ADA	21
2.3	BSI	22
2.4	FDI	23
2.5	DIN	25
2.6	Gegenüberstellung	28
3.0	Systematik biologischer Materialprüfung	29
3.1	Teststufen	29
3.2	Beurteilung der systemischen Toxizität	30
3.3	Beurteilung der lokalen Toxizität	30
3.4	Test in der Zellkultur	30
3.4.1	Zellkulturmethoden	31
3.4.2	Beschreibung der Testverfahren	32
3.4.2.1	Monolayertest	32
3.4.2.2	Millipore Filtertest	33
3.4.2.3	Bakterienwachstumtest	34
3.4.2.4	Zellsuspensionstest ⁵¹ Cr Release	35
3.4.3	Bewertung von in vitro Tests	36
3.5	In vivo Screening Test	37
3.5.1	Intradermaler Test	37
3.5.2	Allergisierendes Potential	38
3.5.3	Suche nach tumorauslösenden Effekten	38
3.5.4	Hämolysetest	38
3.6	Anwendungstests (Usage-Tests)	39
3.6.1	Übertragbarkeit	39
3.6.2	Pulpareaktionen	40
3.6.3	Usage-Tests an gesunden Zähnen	43
3.6.4	Usage-Tests an Zähnen mit entzündeter Pulpa	43
3.6.5	Schleimhautirritationstests	45
3.6.6	Diverse Reaktionen auf Amalgamfüllungen	47
3.7	Klinische Erprobung und ihre Problematik	48
3.8	Korrelation von Screening-Tests und Usage-Tests	49

IV	Vergleichende Übersicht der Testergebnisse aus der neueren Literatur	51
1.0	Fragestellung	51
2.0	Ausgewertete Arbeiten mit kurzer Inhaltsangabe	52
2.1	Screening Tests	52
2.1.1	In vitro Tests	52
2.1.2	In vivo Tests	73
2.2	Usage-Tests	86
3.0	Auswertung der Literaturaussagen	99
3.1	Toxizität	99
3.1.1	Legierungen / Alloys	99
3.1.2	Quecksilber	100
3.1.3	Amalgame	102
3.1.4	Ursachen	106
3.2	Korrelation	107
3.2.1	Tests mit verschiedenen Zellarten	107
3.2.2	Andere Zelltests	108
3.2.3	In vivo Tests und klinische Erprobung	109
3.3	Reproduzierbarkeit	111
3.3.1	Beschreibung der Versuchsdurchführung	111
3.3.2	Versuchsauswertung	111
3.4	Testmaterialien	112
3.5	Einfluß der Härtung- und Liegezeit Problematik der Anfertigung von Prüfkörpern	112
3.6	Statistik	113
3.6.1	Statistische Vergleiche	113
3.6.2	Statistische Analysen und Signifikanztests	113

4.0	Vergleiche mit Standardisierungsvorschlägen	114
4.1	Screeningstests	114
4.1.1	In vitro Screeningstests	114
4.1.2	In vivo Screeningstests	114
4.2	Usage-Tests	115
4.3	Klinische Erprobung	115
V	Zusammenfassung	116
VI	Literaturverzeichnis	122

I. Einleitung

1 Einführung

In kaum einem anderen medizinischen Bereich werden so viele verschiedenartige Fremdstoffe zur Therapie benötigt und im Körper deponiert wie in der praktischen Zahnheilkunde. Diese Materialien müssen nicht nur physikalisch-chemischen Anforderungen genügen, sondern auch lokal und systemisch verträglich sein.

Die verwandten Werkstoffe sollen weder zu örtlichen Reizwirkungen noch zu Fernwirkungen führen, wie sie z.B. durch Spuren der Materialien infolge Auflösungs- oder Korrosionsvorgänge ausgelöst werden können. Diese Fremdstoffwirkungen können auf elektrochemischer, chemisch-toxischer, korrosionsbedingter oder allergischer Basis zustande kommen.

In den letzten Jahren rückten bis dahin fehlende biologische Testmethoden in den Blickpunkt. Eine große Anzahl verschiedener in vivo und in vitro-Verfahren wurde bis heute durchgeführt. Es bereitet jedoch Schwierigkeiten, die Testergebnisse vergleichend zu beurteilen, da viele Versuchsvariationen möglich sind und auch benutzt wurden.

Durch verschiedene Institutionen werden daher seit geraumer Zeit Anstrengungen gemacht, Vorschläge für Standardtestprogramme auszuarbeiten.

Diese Testprogramme beinhalten sowohl Zellkulturtests als auch Versuche an Tieren, wobei häufig versucht wird, Tierversuche möglichst durch Zellkulturtests zu ersetzen.

2. Darstellung der eigenen Aufgabe

Die Aufgabe dieser Dissertation besteht darin, die verschiedenen Arbeiten neueren Datums über dieses Thema in Hinsicht auf die Verwendbarkeit für normierte Testverfahren zu untersuchen unter besonderer Berücksichtigung der biologischen Effekte des Amalgams als Füllungsmaterial. Zusätzlich soll die Möglichkeit der Korrelation von in vivo und in vitro Testmethoden und deren Übertragbarkeit auf die klinische Anwendung beurteilt werden.

II Allgemeiner Teil

1. Beschreibung des Füllungsmaterials Amalgam

1.1 Amalgame sind Legierungen des Quecksilbers mit anderen Metallen. Dieses in frisch angemengtem Zustand knetbare Material wird im Munde hart und eignet sich deshalb vorzüglich als Zahnfüllungsmaterial.

Als TAVEAU 1826 die ersten Füllungen mit seiner "pate d'argent" genannten Mischung aus Silbermünzspänen und Quecksilber herstellte, hat er sicher nicht geahnt, daß bereits der chinesische Arzt LI SHI CHEN 1596 eine Vorschrift zur Herstellung einer Silber-Zinn-Quecksilber-Paste beschrieben hatte.

In einem alten Rezeptbuch von 1601 fand man eine Herstellungsvorschrift für Kupferamalgam, die aus einer Handschrift des Ulmer Arztes STOCKER aus dem Jahre 1528 stammen soll. Niemand konnte damals voraussehen, welche gewaltige Bedeutung das Amalgam in der zahnärztlichen Behandlung erlangen würde. Die bis zur Mitte des 19. Jahrhunderts benutzten Amalgame waren aber als Füllungsmaterial physikalisch noch unvollkommen und pharmakologisch äußerst bedenklich wegen ihrer hohen Anteile von Kupfer, Blei und Zink, deren Salze sich als außerordentlich toxisch darstellen.

In Amerika war man zu diesem Zeitpunkt über die Verwendung des Amalgams sehr zerstritten. Erst zum Ende des 19. Jahrhunderts verdrängte das beständigere Silberamalgam das Kupferamalgam. BLACK in Amerika und WITZEL in Deutschland arbeiteten intensiv an der Verbesserung der physikalischen und chemischen Eigenschaften der Amalgame.

Den zweiten großen 'Amalgamkrieg' entfachte 1926 der Chemiker STOCK. Im Zusammenhang mit einer selbsterworbenen Quecksilbervergiftung warnte er eindringlich vor den Gefahren des Quecksilbers aus Amalgamfüllungen. Die von STOCK untersuchten Amalgame betrafen aber hauptsächlich Kupferamalgame, die heute fast vollständig durch chemisch-physikalisch beständigere Silberamalgame verdrängt sind.

1.2 Legierungen/ Alloys

Diese Komponente des Amalgams ist im wesentlichen eine Silber-Zinn-Legierung mit kleinen Zusätzen anderer Metalle. Je nach Anzahl der Metallkomponenten spricht man von binären, ternären, quaternären etc. Legierungen.

Zur Herstellung des Legierungspulvers, des Alloys, werden im wesentlichen zwei Verfahren angewandt. In dem einen Verfahren werden die Metalle geschmolzen, in Barren gegossen und nach dem Erkalten mechanisch zerspant.

Je nach Art der Herstellung liegt das Pulver dann in Form von Feilung, Spänen, Splintern und Nadeln vor.

Im zweiten Verfahren wird die flüssige Metallschmelze unter hohem Druck verdüst. Es entstehen dann kleine Kügelchen. Dieses Alloy zeichnet sich durch hohes Schüttvolumen, niedrigen Quecksilberbedarf und hohe Plastizität nach der Trituration aus. Im Handel sind auch Gemische dieser beiden Legierungspulverarten aus Span- und Kugelpulver, z.B. das Präparat Dispers alloy. ®

In einer groben Einteilung unterscheidet man heute

- a) die konventionellen Legierungen
- b) die hochkupferhaltigen Legierungen und
- c) die Kupferamalgame.

Zur Sicherung der Qualität der Legierungspulver (Alloys) sind in der ganzen Welt Normen eingeführt worden. Für die Hersteller in Deutschland gelten die DIN-Normen des DNA (Deutscher Normenausschuß). Die DIN-Norm 13904 (11.81) für Silberamalgamlegierungen setzt folgende Grenzwerte für die Legierungsanteile

Silber	min	65%	
Zinn	max	29%	
Kupfer	max	15%	
Quecksilber	max	3%	
Zink	max	2%	
andere unedle Metalle	max	0,05%	(37).

Diese Norm weicht in der Bemessungsgrenze des Kupferanteils (früher 6%) von der bisherigen DIN-Norm 13904 (8.75) (36) und der ADA Spezifikation Nr. 1 für Legierungen für Amalgame in der bisherigen Fassung und von der ISO 1559 (1978) ab.

Eine neue Entwicklung stellen die "high-copper-amalgame" oder "non-gamma-2-amalgame" dar, die es in 2 Arten gibt: Das eine Legierungspulver besteht aus einer Mischung von 2/3 konventionellem Alloy und 1/3 sphärischen Silber-Kupfer-Eutektikums mit einem Kupferanteil von ca. 28%, so daß das Alloypulver insgesamt ca. 13% Kupfer enthält. Das andere Legierungspulver ist einheitlich und hat einen auf 15 bis 30% erhöhten Kupferanteil in der Legierung auf Kosten anderer Legierungsbestandteile.



Das heute nur noch ganz selten benutzte K u p f e r amalgam besteht aus

35%	Kupfer und
65%	Quecksilber,

manchmal mit kleinen Zusätzen von Zink und Zinn. Es kommt bereits als fertiges Amalgam in den Handel. Zur Verarbeitung muß es im Reagenzglas erhitzt werden bis sich Quecksilbertröpfchen abscheiden und das Amalgam weich wird. Dann wird es im Mörser mit einem Pistill trituriert. Der Quecksilberüberschuß wird danach abgepreßt und die plastische Masse in der Kavität kondensiert, wo sie dann erhärtet. Bei der Zubereitung entstehen in großem Maße Quecksilberdämpfe; die Füllungen unterliegen im Mund stärker der Korrosion und wurden daher nur bei der Milchzahnbehandlung eingesetzt. (73, 147).

1.3 Quecksilber (Hydragyrum-Hg)

Obwohl Quecksilber jahrhundertlang als Arzneimittel benutzt wurde, war auch seine Gefährlichkeit als Gift bekannt.

Seine physikalisch-chemischen Eigenschaften machen es jedoch unentbehrlich.

Quecksilber ist das bei Normaltemperatur einzige flüssige Metall. Es verdampft bereits bei Zimmertemperatur und amalgamiert mit fast allen Metallen außer mit Eisen, Nickel und Platin.

Es hat ein spezifisches Gewicht von	13,59,
ein Molekulargewicht von	200,61,
der Siedepunkt beträgt	356,58 °C,
die Erstarrungstemperatur liegt bei	- 38,87 °C,

es hat eine große Oberflächenspannung und einen bereits unter Normalbedingungen beträchtlichen Dampfdruck (20 °C - 0,0013 mm/Hg). Die Verdampfungsfähigkeit nimmt mit steigender Temperatur zu und ist direkt abhängig von der Größe der Oberfläche. Ein m³ Luft kann bei 20 °C 14 mg Quecksilber aufnehmen. Der Quecksilberdampf ist völlig geschmack- und geruchlos und wird beim Einatmen nahezu vollständig resorbiert. Es ist ein starkes Protoplasma-gift für tierische und menschliche Zellen und Mikroorganismen.

Abhängig von der Aufnahmeweise

- a) Magen-Darm-Trakt
- b) Haut
- c) Respirationstrakt

und der Art des aufgenommenen Quecksilbers (metallisches Quecksilber, Quecksilberdampf, anorganische oder organische Quecksilberverbindungen) können verschiedene Vergiftungserscheinungen hervorgerufen werden (181). Reines metallisches Quecksilber ist praktisch unwirksam und ohne Vergiftungswirkung (Suizidversuch einer Zahnarzthelferin mit 25 cm³ Quecksilber per oral. Im Urin waren nur 5,4 mg/l nachweisbar, was etwa der normalen Quecksilberkonzentration im Urin entspricht).

BRAU (22) berichtet von Personengruppen, die Quecksilber als Rauschmittel benutzen. So soll der Kurprinz von Brandenburg am Abend seiner Hochzeit - ohne Schaden genommen zu haben - eine Flasche Quecksilber ausgetrunken haben. "Die großen Quecksilbertrinker aus dem Memelgebiet" tranken Ende des 19. Jahrhunderts täglich 5 bis 30 g Quecksilber.

Quecksilber wird durch die Haut als fettsaures Salz aufgenommen. Verletzungen der Haut begünstigen dabei die Verteilung im Gewebe. Quecksilber und Eiweißzerfallprodukte bilden HgS, das in der Mundschleimhaut als Quecksilbersaum imponiert. Dabei unterstützt die gefäßdilatierende Wirkung des Quecksilbers noch die Quecksilberaufnahme. (210).

Die hohe Antigenpotenz des Quecksilbers und die seiner Verbindungen vermögen bei Menschen, die gegen dieses Metall überempfindlich sind, verschiedenartige allergische Reaktionen auszulösen. Der Sensibilisierungsgrad dieses Kontaktallergens ist außerordentlich hoch, so daß schon geringe Dosen nicht selten zu massiven Reaktionen führen. (199)

1.4 Dental-Amalgame

1.4.1 Verarbeitung

Amalgame sind Knetlegierungen des Quecksilbers mit anderen Metallen. Die Reaktion tritt mit dem flüssigen Quecksilber beim Anreiben oder Mischen in geeigneten Mischgeräten schon bei Raumtemperatur relativ schnell ein. Je feiner die Partikel der festen Reaktionspartner sind, um so schneller läßt sich mit flüssigem Quecksilber daraus eine plastische Masse herstellen, die sich im Laufe der Reaktion verfestigt.

1.4.2 Erhärtungsreaktionen

Die konventionellen Silber-Zinn-Legierungen enthalten hauptsächlich die "Gamma" genannte Silber-Zinn-Phase Ag_3Sn , die mit dem Quecksilber die γ_1 -Phase Ag_3Hg_4 und die γ_2 -Phase Sn_7Hg bilden (42).

Die aus Sn und Hg bestehende γ_2 -Phase ist wegen des hohen Zinn-Anteils mechanisch und korrosionschemisch die schwächste der 3 Phasen. Das bei der Korrosion freiwerdende Hg diffundiert zurück in das Amalgam und verbindet sich dort mit dem noch freien Rest der γ -Phase Ag_3Sn (Merkuroskopische Expansion) (76,215).

1.4.3 Bei den sogenannten γ_2 -freien Amalgamen wird die Bildung der kritischen γ_2 -Phase verhindert, da das "überschüssige" Kupfer sich mit dem Sn verbindet, so daß es nicht mehr zur

γ_2 -Bildung zur Verfügung steht. Anstelle der γ_2 -Phase entsteht eine Kupfer-Zinn-Phase (Cu_6Sn_5), die korrosionschemisch edler ist als die γ_2 -Phase. Es ergeben sich 2 Vorteile: 1. geringere Korrosionsempfindlichkeit, 2. keine korrosionsbedingte Freisetzung des Hg (215).

1.4.4 Dosierung und Trituration werden heute in der Regel nicht mehr mit der Hand durchgeführt. Man bedient sich automatischer Anmischgeräte, die entweder nur mischen oder sowohl dosieren als auch anmischen.

1.5 Quecksilberdampfbelastungen

Die bei der Handhabung der Amalgame auftretenden Hg-Dampfkonzentrationen der Luft sind von vielen Autoren geprüft worden (19,30,52,83,95,97,222). Das toxische Toleranzintervall von Quecksilber in Dampfform wird recht unterschiedlich eingeschätzt, da noch zu wenig gesicherte Unterlagen für erlaubte Dauerbelastungen vorhanden sind (z.B. 20-100 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ Raumlufte) (157). In der Bundesrepublik wurde der MAK-Wert auf 0,1 $\mu\text{g Hg}/\text{m}^3$ Raumlufte festgelegt.

1.5.1 Der MAK-Wert ist diejenige Konzentration eines gas-, dampf- oder staubförmigen Arbeitsstoffes in der Luft und am Arbeitsplatz, gemessen in Arbeitshöhe und unmittelbarer Nähe des Beschäftigten, die nach derzeitiger Kenntnis auch bei langfristiger, in der Regel 8-stündigen Einwirkung, jedoch bei Einhaltung der Wochenarbeitszeit bis zu max. 45 Stunden, im allgemeinen die Gesundheit der Beschäftigten nicht schädigt.

Der MAK-Wert in der BRD beträgt	0,1 mg/m ³ ,
in den USA	0,05 mg/m ³ ,
in Großbritannien	0,01 mg/m ³ , (77, 142),
in der UDSSR	0,01 mg/m ³ , (157),
in der Schweiz	0,05 mg/m ³ (42).

1.5.2 Bei Untersuchungen in den verschiedenen Arbeitsphasen Stopfen, Polieren und Entfernen alter Füllungen wurden Werte von 0,01 bis 1 mg/m³ festgestellt (24, 52, 56, 93, 224). Schon die Verletzung der Oxydschicht einer alten Amalgamfüllung ergibt einen Anstieg der Quecksilberdampfabgabe (117,188). Bei Vergleichsmessungen wurde der MAK-Wert jedoch nicht erreicht (42).

In der Westdeutschen Kieferklinik Düsseldorf 1968 durchgeführte Messungen ergaben in belüfteten Behandlungsräumen 0,011 bis 0,016 mg Hg/m³, in unbelüfteten Behandlungsräumen 0,013 bis 0,023 mg Hg/m³ (93).

1971 in Großbritannien durchgeführte Untersuchungen ergaben
0,003 bis 0,009 mg Hg/m³ in 6 Kliniken und
0,012 bis 0,028 mg Hg/m³ in 4 Kliniken (142).

1981 in 200 Zahnarztpraxen durchgeführte Messungen ergaben
in 10% der Praxen 0,02 mg Hg/m³
in 86,7% der Praxen 0,01 mg Hg/m³ (142).

USCHATZ (210) vergleicht Zahnärzte, Hilfspersonal, Hg-Arbeiter und Hg-Fremde auf deren Quecksilbergehalt im Urin. Er stellte folgende Werte fest:

Erhöhte Ausscheidungen bei Hg-Arbeitern	71 bis 300 µg/l
bei ZA und Hilfspersonal	10 bis 30 µg/l,
bei Patienten m. Amalgamfüllungen	bis 3 µg/l,
bei Hg-fremden Personen:	
Kinder ohne Amalgamfüllungen	0,02 bis 4 µg/l,
Säuglinge ohne Nahrungsaufnahme	0,03 bis 0,05 µg/l (210).

NIXON (142) zitiert FRIBERG und VOSTAL (55), die als obere Grenze der "normalen" Hg-Konzentration von Hg im Urin 20 ng/ml angeben, BATTISTONE findet 3 bis 17 ng/ml bei Kontrollpersonen gegenüber 5 bis 124 ng/ml bei zahnärztlichen Personal. KELMAN (84) berichtet 1978 von Urinkonzentrationen von 15,3 ng/ml bei Kontrollpersonen und bis 38,1 ng/ml bei zahnärztlichen Personal.

NIXON untersucht 358 Personen,

160 Zahnärzte und 198 zahnärztliches Hilfspersonal
und findet Konzentrationen zwischen 15 und 24 ng/ml.

1.5.3 Es ist offensichtlich, daß wir Quecksilber auch mit der Nahrung und mit der Atemluft aufnehmen. Anhand des normalen Eiweiß- und Kalorienbedarfs errechnete man Werte von 5 bis 22 µg/Tag (98, 181, 210). Bei einer durchschnittlichen Quecksilberabgabe von 1 bis 10 µg/l im Urin und der Berücksichtigung, daß auch mit der Atemluft Quecksilber aufgenommen wird (1 µg/Tag) wird die maximalzulässige Quecksilberaufnahme mit 22 µg/Tag angegeben (181, 210). Die wöchentliche Aufnahme soll 300 µg nicht überschreiten, die kritische Dosis liegt bei 400 µg/Tag (181).

In diesem Zusammenhang soll, um das Gefühl der Relation nicht zu verlieren, einmal aufgezeigt werden, welche Quecksilbermengen in der Umwelt freigesetzt werden:

Natürliche Hg-Mengen in der Umwelt:

Erdkruste	ca. 50	µg/kg	
Ozeane	ca. 0,3	µg/l	
Rhein	ca. 0,4	µg/l	
Regenwasser	ca. 1	µg/l	
fossile Brennstoffe	ca. 100	µg/kg	
Luft	ca. 20	µg/m ³	(181).

Durchschnittliche Quecksilberkonzentration i.d. Nahrung:

Thunfisch	420	µg/kg	
Forelle	43	µg/kg	
Leber	30 bis 80	µg/kg	
Pilze	2	µg/kg	
Brot	2,65	µg/kg	
Kartoffeln	2,5	µg/kg	
Kohl	0,3	µg/kg	
Milch	0,16	µg/kg	(181,210).

1.5.4 Umfangreiche Untersuchungen haben ergeben, daß die aus einer 90 mm² großen trockenen, ausgehärteten Silberamalgamfüllung abgegebene Hg-Menge pro Tag maximal 0,005 mg betragen kann (117).

MAIER (120) vermaß 500 amalgamgefüllte extrahierte Zähne; bei mehrflächiger Füllung aller Sechsjahresmolaren und zweiflächiger Füllung aller zweiten Prämolaren ergab sich eine durchschnittliche Füllungsfläche von 380 mm² (117). Theoretisch wäre die maximale Hg-Dampfabgabe dieser Füllungsfläche 0,021 mg/Tag. Das sind bei ungefähr 50 m³ Luftbedarf täglich

1/238 des MAK-Wertes. Vergleicht man diesen Wert mit der durchschnittlichen täglichen Aufnahme durch Luft ($1\text{ }\mu\text{g}$),

Getränke ($1\text{ }\mu\text{g}$),

Nahrung ($22\text{ }\mu\text{g}$),

also von insgesamt $0,024\text{ mg}$,

so kann man feststellen, daß selbst bei maximaler Kumulierung dieser Werte die Gefahr einer Hg-Vergiftung durch Amalgamfüllungen ausgeschlossen werden kann. Da infolge von Speichelbenetzung und die dadurch bedingte Oberflächenpassivierung eine ständige Abgabe von Hg-Dämpfen aus Füllungen aber verhindert wird, werden die oben genannten theoretischen Werte nie erreicht.

1.5.5 Nur eiweißhaltige Substanzen haben primär die Fähigkeit, als Antigene zu wirken. Eiweißfremde Stoffe müssen zuerst an Eiweiß gebunden werden. Man nennt diese Stoffe dann Halbantigene oder Haptene. Ist die Sensibilisierung einmal erfolgt, kann der einfache Stoff, ohne an Eiweißkörper gebunden zu sein, allergische Manifestationen verursachen und unterhalten. Quecksilber besitzt eine sehr hohe Antigenpotenz. Eine exakte Trennung zwischen dem Erscheinungsbild einer toxischen Einwirkung eines Materials und dem seines allergischen Reaktionsbildes läßt sich nicht immer finden, da die Symptome sich im allgemeinen ähneln. STRÄßBURG (199) zitiert SPRENG und FRYKHOLM und kommt nach eigener Falluntersuchung zu der Auffassung, daß in früherem Schrifttum beschriebene Krankheitsfälle nach Füllungstherapie mit Amalgam irrtümlich als Folgen chronischer Hg-Vergiftungen gedeutet wurden, in Wirklichkeit aber Reaktionen eines

allergischen Vorganges waren. DJERASSI und BROVA (40) und WHITE und BRANDT (221) erkannten eine verborgene Überempfindlichkeit in gesunden und nicht allergisch reagierenden Personen.

Sie untersuchten Zahnmedizinstudenten während ihrer klinischen Ausbildung und fanden im ersten Jahr 2% mit positiven Hg-Überempfindlichkeiten, was etwa dem Normalen entspricht. Im letzten Jahr der Ausbildung waren es jedoch 10,8% und die Autoren folgerten daraus, daß die Entwicklung dieser Überempfindlichkeit eine ständig wachsende Gefahr in den ZA-Praxen bedeutet (77).

1.6 Elektrochemische Reaktion (Korrosion)

Das Auftreten von Korrosionserscheinungen bei der Verwendung von Dentallegierungen als Füllungsmaterial von Kavitäten und in der prothetischen Versorgung als Kronen, Brücken und Modellgußarbeiten ist ein außerordentlich großes Problem. Solche Korrosionsschäden können nicht nur physikalischer Natur sein, was zu verminderten Festigkeiten bis zur Zerstörung von Kronenaufbauten und Füllungen führen kann, sondern die Schädigungen oder Beeinträchtigungen können in seltenen Fällen vom galvanischen "Schock" (Ursache: kurzer Stromfluß bei kurzgeschalteten Metallelektroden verschiedener Potentiale) über metallischen Geschmack durch lösliche Korrosionsprodukte bis zu Veränderungen des Mundgewebes und hypersensiblen Reaktionen reichen (49, 199).

Als Ionenlieferanten sind diese Legierungen nicht ergiebig, entsprechend niedrig sind auch die auftretenden Ströme (117). Die an Amalgamfüllungen gemessenen Potentiale betragen gegen

Kalomelelektrode	- 100 mV bis -550 mV,
Goldfüllung	+ 50 mV bis -200 mV,
CrCo-Edelstahl	- 50 mV bis -300 mV (117).

Die größten gemessenen Ströme im Augenblick des Kurzschlusses zweier Füllungen liegen bei etwa 25 μ A, die aber augenblicklich auf ca. 1 - 3 μ A abklingen (99).

Bei den Strömen lassen sich aus den Stromstärken allein keine Schlüsse auf Nebenwirkungen als Noxe ziehen.

Fragen auf Muskel- oder Nervenreizungen können nur im Zusammenhang von Stromstärke und Stromdichte beantwortet werden. Solange aber über den Verlauf und den Querschnitt der Strombahnen im Gewebe nichts bekannt ist, sind alle Vermutungen hierzu spekulativ (117).

III Biologische Testmethoden

1. Probleme der biologischen Untersuchung zahnärztlicher Füllungsmaterialien

Seit Jahren sind physikalische und chemische Anforderungen, die an dentale Materialien gestellt werden, in Normen festgelegt. Die Forderung nach einer Mindestqualität wurde damit erfüllt. Immer drängender aber wird die Frage nach Testmethoden für dentale Materialien, mit denen sich die biologischen Verträglichkeiten testen lassen.

Die traditionelle Methode des Testens dentaler Füllungsmaterialien bestand vor einigen Jahren allein in der histologischen Untersuchung der Pulpa der mit Testmaterial gefüllten Zähne nach verschiedenen Zeitintervallen.

Solche Untersuchungen werden an tierischen und menschlichen Zähnen durchgeführt. Neben den Fragen der Ethik sind die Untersuchungen jedoch umstritten, da die Reproduzierbarkeit durch subjektive Bewertungsmaßstäbe und unbeeinflussbare Faktoren sehr fraglich ist (183, 208).

Nicht allein die toxischen Eigenschaften eines Materials verursachte Gewebeantworten, auch physikalische Vorgänge, wie Expansion, Kontraktion, Wärmeleitfähigkeit oder die verstärkte Retentionsmöglichkeit für Plaque auf rauhen Flächen, auch die Verarbeitung des Materials, z.B. Kondensationsdruck bei Amalgamfüllungen (133, 180) spielen eine Rolle. Bakterien und Speichel können infolge von Diffusion durch Mikroleakage zum Dentin gelangen (20, 148).

auch die Mikroflora, die durch Kontamination das Material als evtl. Nährsubstanz benutzt, beeinflusst den Ablauf solcher klinischen und Anwendungstests.

Auch ist die Reaktion abhängig von der Art und der Resistenz des Gewebes oder Organs und nicht zuletzt von der Art und dem Gesundheitszustand des Testindividuum selbst.

So muß ein im Versuch toxisches Füllungsmaterial keineswegs sofort und immer Pulpareaktionen auslösen, kann aber bei endogen reduzierter Resistenz der Schleimhaut und unpolierter Füllungsoberfläche zum Auslösungsfaktor von Entzündungen werden (183).

Es wird deutlich, daß - anders als bei der Untersuchung von Medikamenten mit Zellkulturen und Kleintieren - eine zuverlässige Beurteilung dentaler Materialien nur in Kombination von Experimenten erfolgen können, die so weit wie möglich die vorhergesehene zahnärztliche Anwendung des Materials in der Mundhöhle reproduzieren.

Dabei ist außerdem zu berücksichtigen, daß zahnärztliche Füllungsmaterialien nicht als Medikamente mit gewollt pharmako-dynamischer Wirksamkeit entwickelt werden.

Sie sind - im strengen Gegensatz dazu - als Materialien zu verstehen, die keine medikamentöse Wirkung entfalten sollen. Sie wurden entwickelt, um als möglichst unlösliches bzw. chemisch inertes Material im Munde des Patienten, die durch kariöse oder traumatische Vorgänge verlorengegangene Zahnhartsubstanz über einen möglichst lebenslangen Zeitraum zu ersetzen (159).

2 Stand der derzeitig bestehenden und im Entwurf befindlichen Spezifikationen

2.1 Normungsbemühungen

Eine Vielzahl Testverfahren und Methoden wurden zur biologischen Materialprüfung bis heute beschrieben und veröffentlicht. Trotz gleicher Testmaterialien erreicht man aber wegen der Unterschiedlichkeit der verschiedenen Verfahren unterschiedliche Ergebnisse.

Da es im Gegensatz zu physikalisch-chemischen Prüfungen für Werkstoffe noch keine Standardtestverfahren für biologische Prüfungen gibt, werden von allen Beteiligten verbindliche Richtlinien gefordert (7, 68, 100, 183), die sich an den jeweiligen Erkenntnisstand der Wissenschaft anpassen müssen.

Die Normung auf dem Gebiet zahnärztlicher Werkstoffe begann 1920 in Amerika. Das "National Büro of Standards" in Washington erarbeitete eine erste Spezifikation für Amalgame.

Normenausschüsse aus ca. 60 Ländern arbeiten seit 1962 in der ISO (Int. Organisation for Standardisation) zusammen, um auf internationaler Ebene Normen zu schaffen. In der Bundesrepublik arbeitet der DNA (Deutscher Normenausschuß) mit dem FNA (Fachnormenausschuß Dental) an der Normung.

Nach dem am 1.1.1978 in Kraft getretenen neuen Arzneimittelgesetz in der Bundesrepublik sind auch für viele zahnärztliche Materialien biologische Tests erforderlich.

2.2 ADA (American Dental Association)

Die ADA unterscheidet die dentalen Materialien nach 6 Typen:

I	Restorative materials
II	Prothetik materials
III	Endodontic materials
IV	Periodontal materials
V	Orthodontic materials
VI	Miscellaneous materials.

Typ I wird in 7 Klassen unterteilt:

Klasse 1	Metallic materials
" 2	Nonmetallic materials
" 3	Cavity liners and bases
" 4	Cements
" 5	Sealants
" 6	Reagents for pretreatment
" 7	Coating for surfaces restorations

Amalgam als Füllungsmaterial wird eingestuft in Typ I, Klasse 1a: Amalgame. Nach den Vorstellungen der ADA sind für Amalgame folgende Tests anwendbar:

Cytotoxicity

Hemolysis

Ames

Styles cell transformation

Mucous membrane irritation

Subcutaneous implantation

Irritation of pulp.

2.3 BSI (British Standards Institutions (25)

Das BSI hat eine etwas andere Einteilung der dentalen Materialien:

- 1 Base plate materials and waxes
- 2 Ceramics
- 3 Dental resins and tooth materials
- 4 Endodontic materials
- 5 Filling materials
- 6 Impression and duplicating materials
- 7 Metals (excluding amalgam alloys)
- 8 Plasters, investments and die materials
- 9 Prophylactic/preventive materials

Mit der Unterteilung der Filling materials in

- a Temporary filling materials
- b Non metallic filling materials
- c Metallic filling materials

und schlägt für Amalgame (5c) folgende Tests vor:

- 1 Acute systemic toxicity (oral route)
- 2 Skin irritation
- 3 Skin sensitisation
- 4 Oral mucosa irritation
- 5 In-use test for filling material.

Zu 1: entspricht den LD₅₀ Tests zur Feststellung der akuten systemischen Toxizität.

Zu 2: Getestet werden an Ratten Hautirritationen durch Einbringen von Testmaterialien ins Stratum corneum; Kurzzeituntersuchungen von 24 bzw. 72 Stunden.

Zu 3: An Meerschweinchen-Haut soll die Abstufung der Hautempfindlichkeit durch die zu testenden Materialien aufgezeigt werden.

Zu 4: An Hamstern soll die Irritation der Schleimhaut der Hamsterbackentasche durch das Material untersucht werden.

Zu 5: Test für alle Materialien, die in Kontakt mit dem Dentin kommen. Material, verarbeitet nach Angaben des Herstellers in Black-Klasse 5- Kavitäten von Affen, Hunden, Katzen oder Frettchen; Beobachtungszeit 7, 28 Tage, 6 Monate; nach Tötung der Tiere histologische Beurteilung der Odontoblastenschicht, Odontoblastenkerne, Entzündungszellen, Sekundärdentin.

2.4 FDI (Federation Dentaire Internationale) Dokument 198 empfiehlt folgende Klassifikation:

- Typ I Materialien zur Wiederherstellung von Zähnen
 - II Materialien für die Prothetik
 - III Materialien für Endodontic
 - IV Materialien im Kontakt mit Zahnhalteapparat
 - V Material für die Kieferorthopädie
 - VI Material für die Kiefer- und Gesichts-Chirurgie
 - VII Material für Vorsorge und Verhütung.

Typ I wird in 5 Klassen unterteilt:

Klasse 1 Materialien, die zur Wiederherstellung von Zähnen dienen,

- a) Metallische Materialien zur direkten Wiederherstellung (ohne Zemente),
- b) Metallische Materialien zur indirekten Wiederherstellung (mit Zementen),
- c) Silicat-Zemente,
- d) Kunststoffe,
- e) Composites

Klasse 2 Zemente

Klasse 3 Versiegler

Klasse 4 Medikamente zum Schutz von Dentin und Schmelz

Klasse 5 Inlay und Kronenwachse

Amalgame sind in Typ I, Klasse 1 a) eingeordnet und folgende Tests sind vorgeschlagen:

- 1) Short term systemic toxicity test: oral route
- 2) Ames test
- 3) Styles test
- 4) Dominant Lethal test
- 5) Cytotoxicity (chromium release)
- 6) " (millipore filter)
- 7) " (agar overlay)
- 8) Subcutaneous Implant Test
- 9) Sensitiation Test
- 10) Mucous membrane Test
- 11) Pulp Test

1 bis 7 sind sogenannte "Initial"-Tests, 8 bis 10 sind "Secondary"-Tests und 11 ist ein "Usage"-Test.

Es ist nicht daran gedacht, daß jeder Test durchlaufen werden muß. Der Hersteller kann unter ähnlichen Tests einer Gruppe den heraussuchen, der am besten für das Material paßt. So kann z.B. der Amest'Test durch den Styles'Test oder den Dominant Lethal Test ersetzt werden.

Es sollen aber alle 3 Teststufen durchlaufen werden:

Stufe I	Initial Test	
Stufe II	Secondary Test	
Stufe III	Usage Test	(5).

Man will dadurch erreichen, daß stark toxische Materialien in preiswerten Initial- und Secondary-Tests durchfallen und somit nicht noch die teuren, langwierigen Usage-Tests durchlaufen müssen.

Es sollte aber immer der zukünftige spezielle Einsatz des Materials im Auge behalten werden, damit nicht z.B. Materialien mit bekannter geringer Cytoxicität durch "Initial"- und "Secondary"-Tests eliminiert werden und damit nicht mehr zur Verfügung stehen, obwohl bekannt ist, daß bei ihrem zukünftigen Einsatz als Füllungsmaterial nur begrenzte Kontakte mit Geweben vorkommen werden.

2.5 DIN Deutsche Norm

Der Normenausschuß Dental im DIN - Deutsches Institut für Normung e.V.-schlägt in seinem Entwurf 13930, Biologische Prüfung von Dentalstoffen, folgende Regelung vor:

Werkstoffgruppe 1:

Werkstoffe, die bei der Verarbeitung mit dem menschlichen Körper durch Hautkontakte, durch versehentliches Verschlucken oder durch Inhalation, jedoch nicht beabsichtigtweise mit den Geweben der Mundhöhle in Kontakt kommen.

In Tabelle 1 steht hierzu unter

Lfd. Nr. 7: Quecksilber und Legierungspulver zur Herstellung von Amalgam (siehe auch 3/7)

Werkstoffgruppe 3:

Werkstoffe, die mit der Mundschleimhaut und/oder der Gingiva in langzeitigen Kontakt kommen, d.h. länger als 1 Stunde.

In Tabelle 3 steht hierzu unter

Lfd. Nr. 7: Plastische metallische Füllungsstoffe
(siehe auch 4/1)

Werkstoffgruppe 4:

Werkstoffe, die mit dem Hartgewebe vitaler Zähne in Kontakt kommen.

In Tabelle 4 steht hierzu unter

Lfd. Nr. 1: Plastische metallische Füllungswerkstoffe
(siehe auch 3/7).

Die biologischen Prüfungen werden in 3 Gruppen eingeteilt:

- Systemische Toxizität (89)
- allergisierende Eigenschaften
- lokale Toxizität und Gewebeirritation.

Die für Amalgame als Füllungsmaterial vorgeschlagenen Prüfungen (siehe Gegenüberstellung 2.6) sind folgendermaßen unterteilt:

				f. Amalgame angekreuzt
4.1.1	Prüfungen auf systemische Toxizität			X
a)	Prüfung auf akute Toxizität bei oraler Applikation	Abschn. 5.2.1		x
b)	Prüfung auf subakute Toxizität bei oraler Applikation	" 5.2.2	Pool A	x
c)	Prüfung akute Toxizität bei intra- venöser Applikation	" 5.2.3		x
d)	Prüfung auf akute Toxizität bei intraperi- tonealer Applikation	" 5.2.4		x
e)	Prüfung auf akute Toxizität bei Inhalation	" 5.2.5	Pool B	x
f)	Prüfung auf subakute, subchronische und/ oder chronische Toxizität bei Inhalation	" 5.2.6		x
4.1.2	Prüfungen auf allergisierende Eigenschaften			
a)	Meerschweinchen-Maximierungs-Prüfung	" 5.2.7		x

f. Amalgame
angekreuzt

4.1.3 Prüfungen auf lokale Toxizität und Gewebeirritation

4.1.3.1 Vorprüfungen (Screening-Tests)

a) Agar-Diffusions-Prüfung	Abschn. 5.2.8		X
b) Chromabgabe-Prüfung	" 5.2.9		X
c) Filter-Prüfung	" 5.2.10	Pool C	X
d) Wachstumsinhibitions-Prüfung	" 5.2.11		X
e) Intramuskuläre Implantationspr.	" 5.2.12		X
f) Subkutane Implantationsprüfung	" 5.2.13		X
g) Intraossäre Implantationspr.	" 5.2.14		X
h) Ames-Mutagenitätsprüfung	" 5.2.15		X
i) Style's Zelltransformationspr.	" 5.2.16	Pool D	X
j) Dominant-Letal-Prüfung	" 5.2.17		X

4.1.3.2 Anwendungsprüfungen

a) Prüfung auf akute Schleimhautirritation	" 5.2.18		X
b) Prüfung auf subakute Schleimhautirritation I	" 5.2.19		X
c) Prüfung auf subakute Schleimhautirritation II	" 5.2.20	Pool E	X
d) Pulpa- und Dentinprüfung für Füllungswerkstoffe	" 5.2.21		X
e) Prüfung für direkte Pulpaüberkap- pungs- und Pulpotomiewerkstoffe	5.2.22		
f) Endodontische Anwendungsprüfung	5.2.23		
g) Anwendungsprüfung für Dental implantatwerkstoffe	" 5.2.24		

Innerhalb der einzelnen "Pools" bleibt dem verantwortlichen
Prüfer die Wahl einer geeigneten Prüfmethode überlassen.

Für Amalgame kämen infrage:

Systemische Toxizität	= aus Pool A
allergisierende Eigenschaften	= Meerschweinchen- Maximierungstest
lokale Toxizität und Gewebeirritation	= aus Pool C und D
Usage-Test	= aus Pool E und Pulpa und Dentinprüfung für Füllungswerkstoffe

2.6 Gegenüberstellung		FDI		ADA		DIN		BSI	
1.	Cytotoxizität			I	O				
1.1	Agar Overlay	I	O			X	O		
1.2	Freigabe von ⁵¹ Chrom	I	O			X	O		
1.3	Millipore Filter	I	O			X	O		
1.4	Wachstumsinhibitionstest					X	O		
2.	Hämolyse Test	I		O					
3.	Ames' Test	I	O	I	O	X	O		
4.	Styles' Test	I	O	I	O	X	O		
5.	Dominant Lethal Test	I	O	I		X	O		
6.	Oral LD 50	I	O	I		X	O	X	O
7.	Intra venös LD 50	I				X	O		
8.	Intra peritoneal LD 50			I		X	O		
9.	Inhalationstest	I		I		X			
10.	Schleimhautirritations Test	I II	O	II	O			X	O
10.1	akut					X			
10.2	subakut					X			
11.	Dermale Toxizität			II				X	O
12.	Subkutane Implantation	II	O	II	O	X	O		
13.	Intramuskuläre Implantation					X	O		
14.	Knochenimplantation	II		II		X			
15.	Allergisierende Eigenschaften	II	O	II		X	O	X	O
16.	Irritation der Pulpa	III	O	III	O	X	O	X	O
17.	Pulpaüberkappung	III		III		X			
18.	Endodont. Gebrauchstest	III		III		X		X	
19.	Dentaler Impl. Test	III		III		X			
20.	Sicherheitsvorschriften	X		X		X	O		

- I = initial tests
 II = secondary tests
 III = usage tests
 O = diskutierbare Tests für Amalgame als Füllungsmaterial

Der tabellarischen Zusammenstellung dieser Tests liegen
Vorschläge folgender Institutionen zugrunde:

FDI vom Oktober 1979
 ADA vom Oktober 1979
 DIN von 1982 (Entwurf)
 BSI von 1980

3 Systematik biologischer Materialprüfung

3.1 Die Gremien, die sich heute mit den Normen für biologische Materialprüfung befassen, sind sich einig, daß diese Prüfungen, vor allem, um Kosten niedrig zu halten, in 3 aufeinanderfolgenden Teststufen durchgeführt werden sollten:

- I Toxizitäts- und Eliminationstests
- II Anwendungstests bei Tieren
- III Klinische Erprobung (7, 89).

Bei den Toxizitäts- und Eliminationstests handelt es sich um Laboruntersuchungen, die ohne Berücksichtigung der zahnärztlichen Verwendung des Materials und unter Verwendung kleiner Versuchstiere oder biologischer "in vitro-Systeme", wie Zellkulturen, durchgeführt werden. Geprüft werden nicht nur die Materialien selbst, sondern auch ihre Ingredienzien, was die Elimination stark toxischer Substanzen in der frühen Phase der Entwicklung ermöglichen soll. Das hat natürlich aber den Nachteil, daß für den Patienten evtl. wertvolle Materialien bei unzweckmäßigen Testmethoden der Stufe I vorzeitig aus der Entwicklung gezogen werden. Ohne Berücksichtigung der speziellen Anforderungen sind aber biologische Testmethoden mit Zellkulturen einfach, gut zu überschauen, gut kontrollierbar, technisch unkompliziert und in großer Anzahl verhältnismäßig preiswert durchführbar.

3.2 Beurteilung der systemischen Toxizität

Hierfür vorgeschlagene Tests entsprechen weitgehend den bekannten DL_{50} -Tests an Nagetieren (Ratten, Mäuse) mit einer Dosis von 1,0 mg/kg Körpergewicht. Der orale DL_{50} wird hierbei der Vorzug gegeben, wenn als Verabreichungsform die erhärteten, gepulverten Substanzen geprüft werden sollen. Eluate können i.V. in Anwendung kommen.

3.3 Beurteilung der lokalen Toxizität

Diese Tests werden als Implantationstests an Kaninchen, Ratten, Meerschweinchen, Mäusen, Hamstern beschrieben (8, 9, 39, 85, 88, 89, 126, 183, 173).

Der Implantationstest in der Kaninchenmuskulatur nach LAWRENCE (106) wird als einfache, brauchbare und sichere Methode angegeben. Ohne histologische Auswertung ist sie etwas weniger empfindlich als die Prüfung in der Zellkultur. Die Resultate dieser Tests korrelieren aber gut miteinander. Bei Materialien mit geringer Toxizität ist die mikroskopische der makroskopischen Auswertung vorzuziehen.

3.4 Test in der Zellkultur

Dieses ist eine empfindliche Methode. Zellkulturen mit reinen Zelllinien bieten ein gut definiertes biologisches System. Wachstum und Metabolismus dieser Zellen können durch sensitive Parameter gemessen werden und Veränderungen durch die zu testenden Materialien werden leicht erkannt. Verschiedene

Zellkulturtechniken sind vorgeschlagen worden, um dentale Materialien allein oder mit in vivo-Tests zusammen in ihrer relativen Toxizität zu bestimmen (8, 78, 173, 174, 183).

3.4.1 Zellkulturmethode

KAWAHARA (78) führte als erster die "in vitro"-Technik in die dentale Forschung ein. Es wurden mit wechselnden Erfolgen Versuche mit verschiedenen Zelltypen und Zellstämmen in unterschiedlichen Medien gemacht. Die Verfasser (78) sind der Ansicht, daß heteroploide Zellen für Experimente ungeeignet sind, daß aber diploide Zellen, vorzugsweise Fibroblasten, am besten Pulpa-Fibroblasten, benutzt werden sollten, wenn dentale Materialien getestet würden.

SPANGBERG (173) vergleicht menschliche Pulpa-Fibroblasten mit HeLa-Zellen im Kontakt mit dentalen Materialien und stellt anhand der Reaktionsmuster eine hohe Korrelation in den Vordergrund. Er macht außerdem darauf aufmerksam, daß die Unterschiede zwischen Haut-Fibroblasten und Pulpa-Fibroblasten in der Kultur schnell verschwinden, da sich die Zellen innerhalb kurzer Zeit dedifferenzieren.

In letzter Zeit entwickelte und immer wieder verbesserte Methoden zur Zellanalyse im Kontakt mit dentalen Materialien haben die Möglichkeiten der in vitro Screening-Tests erweitert.

Die neu entwickelten Techniken beinhalten die Benutzung von
-einschichtigen Gewebekulturtests

-Millipore-Filter-Tests

-Bakterienkulturtests

-Zellsuspensionstests.

Obwohl diese Tests Informationen über biologische Verträglichkeiten anbieten, gibt es wissenschaftlich noch keine Einigung über die Korrelation dieser Tests mit dem Gebrauch des Materials im Kontakt mit menschlichem Gewebe.

3.4.2 Beschreibung der Testverfahren

3.4.2.1 Monolayertest

Verschiedene Gewebekulturmethoden sind zur Untersuchung der Materialtoxizität entwickelt worden. Beim Monolayertest benutzt man homogene Fibroblastenstränge oder epitheliale Zellen. Nach maximalem Wachstum werden die Zellen aus den Kulturflaschen entnommen. Sie werden gezählt, so daß gleiche Anzahl Zellen auf eine Serie von Kulturschälchen zusammen mit Wachstumsmedium placiert werden können. Wenn man eine einschichtige Zellkultur erhalten hat, wird das mit Äthylenoxyd sterilisierte und entgaste, zu testende Material auf den Monolayer placiert und die Inkubation bei 37 °C über 24 bis 48 Stunden fortgesetzt. Die Proben können auf verschiedene Weise ausgewertet werden:

- Das mikroskopische Erscheinungsbild der Zellen auf dem Testmaterial oder dem Kontrollmaterial und das Fehlen von Zellen im Bereich nahe der Materialien wird beurteilt.
- Analyse der Wachstumsmedien zur Bestimmung des Anteils von Milchsäure oder der Verbrauchsmenge einer bekannten Glukosemenge, die ursprünglich im Kulturmedium eingesetzt war.
- Die Menge der Aufnahme von Vitalfarbstoffen und Zellzählung von lebenden Zellen im Vergleich mit Kontrollen.

3.4.2.2 Millipore Filtertest / Agar Overlay

Eine einschichtige Zellkultur wird auf einem Millipore Filter angesetzt. Nachdem sich Zellkulturen gebildet haben, wird das Kulturmedium entfernt. Agar in Eagles Medium wird auf 40 °C erhitzt und auf das Schälchen pipettiert. Bei Zimmertemperatur verfestigt sich die Agarschicht. Dann wird die Agarschicht vorsichtig vom Schälchen entfernt, zusammen mit dem Millipore Filter angehoben und umgedreht ins Schälchen zurückgesetzt. Der Millipore Filter und der Zellmonolayer sind dann oben auf dem Agar. Das Testmaterial wird auf den Filter gelegt und die Kultur wird inkubiert. Danach wird der Filter vorsichtig entfernt. Die Ausdehnung der Zonen um jede Probe wird gemessen und mit Kontrollen verglichen.

Im Gegensatz zu der bei SCHMALZ (183) beschriebenen Agar Overlay-Technik, die eine modifizierte Methode nach GUESS und ROSENBLUTH (66) darstellt, arbeitet ZEMKE (227) mit Methylzellulose.

Neben der besseren Verarbeitungsfähigkeit bei niedrigen Temperaturen besteht hier außerdem der Vorteil, daß der Prüfkörper durch die Methylzellulose hindurchsinkt und dem Zellrasen direkt aufliegt. ZEMKE färbt die Zellen auch erst zum Schluß des Versuchs, da Neutralrot mit Licht die Zellen schädigt. Man erreicht mit dieser Methode den Vorteil der laufenden Kontrolle des Versuchs und der Zellen.

Den Überlegungen, daß die Agarschicht als Modell für die Diffusion toxischer Substanzen durch das Dentin anzusehen ist (102, 173, 174) schließt sich auch SCHMALZ (183) nicht an,

da angeschnittene, mit Dentinsplitttern verlegte Dentinkanälchen nicht mit zellulärem Gewebe verglichen werden können.

3.4.2.3 Bakterienwachstumstest

In Standardteströhrchen werden Bakterien, z.B. Streptococcus mutans in 5%iger Succose-Trypticase-Hefeextrakt geimpft. Das zu testende Material wird an einem Draht in der Lösung aufgehängt. Nach einwöchiger Inkubationszeit werden die Drähte mit den Testmaterialien in Röhrchen mit frischer Brühe eingehängt und diese Transfers werden im wöchentlichen Abstand dreimal wiederholt. Durch Absorptionsmessung bei 520 nm wird die Bildung von Bakterienwachstum bestimmt.

Zusätzlich werden die pH-Werte der Flüssigkeiten auf Veränderungen von Anfangs-pH 7,1 untersucht. Der Bakterienbefall der Drähte und der Proben wird untersucht.

Bakterienwachstumstests oder Wachstumsinhibitionstests arbeiten im Gegensatz z.B. zum Hämolysetest mit replizierten Zellen. Da hier das Wachstum und nicht die Zellauflösung bestimmt wird, ist der WIT (Wachstumsinhibitionstest) empfindlicher.

Anders als beim Diffusionstest muß die toxische Substanz nicht durch eine Agarschicht diffundieren, die Materialien brauchen auch nicht sterilisiert zu werden. Nachteilig ist eventuell die Tatsache, daß nur Eluate der Materialien getestet werden. Trotz des erheblichen Zeitaufwandes für den Test ist er den komplizierteren oder aufwendigeren Methoden vorzuziehen, bei denen z.B. mit radioaktiven Substanzen gearbeitet wird (174). Die durch Proteinbestimmung durchgeführte Ergebnismittlung ist vorteilhafter, da hier das Wachstum der

gesamten Kultur gemessen wird, wohingegen bei anderen Versuchen nur Stichprobenzählungen der Zellen mit den bekanntlich hohen Fehlerquoten durchgeführt werden.

Gegenüber den von anderen Autoren beschriebenen Methoden (8, 78, 174) hat sich die von GUESS (66) gezeigte Agar Overlay-Methode in der von SCHMALZ/AUTIAN (183) modifizierten Weise durchgesetzt. Nachteilig ist, daß die toxischen Substanzen erst durch den Agar hindurchdiffundieren müssen, was nicht den beim Patienten angetroffenen Gegebenheiten entspricht. Ein weiterer Nachteil liegt im Auswertungssystem, welches stark von der Erfahrung dessen abhängt, der die zelluläre Reaktion graduiert. Die Methode kann deshalb nur als semi-quantitativ bezeichnet werden. Es überwiegen aber folgende Vorteile:

- einfache, für Zellkulturmethoden robuste Technik, die ohne großen Personal- und Materialaufwand durchgeführt werden kann;
- Testmaterialien brauchen nicht sterilisiert zu werden, Antibiotikaaanwendung entfällt;
- trotz Einfachheit eine empfindliche Methode;
- Die Korrelation zu Implantationsverfahren beim Kaninchen ist groß (8, 183).

3.4.2.4 Zellsuspensionstest (^{51}Cr -Release)

Eine neu entwickelte Methode zur Beurteilung der Cytotoxizität dentaler Materialien basiert auf der Freisetzung radioaktiven Chroms aus abgestorbenen Zellen. Dies ist ein schneller und hochsensitiver Test, der eine objektive Beurteilung der Zellschädigung ermöglicht. Zellen von 3 bis 5 Tage alten Zellkulturen werden mit Natriumchromat (^{51}Cr) 24 Stunden lang inkubiert. Eluate der zu testenden Substanz werden mit den

markierten Zellen vermischt und bei 37 °C 1 bis 24 Stunden lang inkubiert. Die markierten Zellen werden dann mit einem Gammateilchenzähler gezählt und der Anteil des ^{51}Cr , welches aus abgestorbenen Zellen ausgetreten ist, wird erfaßt.

Diese Methode hat zwei Vorteile: direkter Kontakt zwischen Testmaterial und zu untersuchender Zelle - hohe Sensitivität; hohe Genauigkeit durch Zählen der Radioaktivität.

3.4.3 Bewertung von in vitro Tests

Vorteile

- Schnelle Resultate,
- empfindliche Reaktion auf toxisches Material,
- Möglichkeit des Experimentes an menschlichen Zellen,
- quantitative Messung der Toxizität ist möglich,
- große Anzahl von kontrollierten Experimenten ist möglich,
- es können Versuche mit isolierten Zelltypen gemacht werden,
- Die Reaktionen von lebenden Zellen können sofort registriert werden

Nachteile:

- Die gefundenen Ergebnisse können nur bedingt auf die klinische Situation übertragen werden,
- ungeeignet für die Untersuchung komplexer Gewebereaktionen, wo z.B. die Integrität der Blutversorgung erforderlich ist,
- die vorhandenen stabilen Bedingungen können darin resultieren, daß das System zu empfindlich wird,
- die Isolation schließt wichtige Entgiftungswege (Leber, Niere, Lymphe) aus.

Nach Durchsicht der Literatur scheint es zweifelhaft, ob die Zellkultur als alleinige Methode zur Untersuchung der Biokompatibilität verwandt werden kann. Vorteilhaft wäre eine Kombination mit anderen Methoden (in vivo Tests, klinische Studie). Bei sorgfältiger Abgrenzung und kritischer Betrachtung der Vor- und Nachteile kann die Untersuchung mit der Gewebeskultur ein wichtiger Faktor bei der Gesamtbeurteilung der Biokompatibilität zahnärztlicher Materialien sein.

3.5 In vivo Screening Test

3.5.1 Intradermaler Test

Dieser von KLÖTZER (89) beschriebene Test gliedert sich in zwei Teile:

- I Intradermaltest beim Kaninchen,
- II Extraktionsverfahren dazu.

Der Autor geht von der Überlegung aus, daß feste Materialien nur dann toxische Reaktionen auslösen können, wenn Bestandteile aus den Materialien lösbar oder auslaugbar sind.

Diese Methode eignet sich nach Meinung des Autors zur Ermittlung der primären Irritation durch zahnärztliche Materialien und deren Komponenten. Diese intradermale Testmethode ist relativ unsensibel (88, 89).

3.5.2 Allergisierendes Potential

Allergische Reaktionen werden auf eine Vielzahl von Materialien beobachtet. Es wird zwar häufig die Ansicht vertreten, daß die Sensibilisierung von Patienten oder Behandler ein seltenes Ereignis sei, so daß sich tierexperimentelle Untersuchungen nicht lohnen. Im Interesse dieser Personen sollte aber nichts unversucht bleiben. Ein wertvolles Verfahren wurde 1969 ausgearbeitet: Der "Meerschweinchen-Maximisierungstest" (112); die Verfasser machten sich die Tatsache zunutze, daß Meerschweinchen leicht sensibilisierbar sind und dazu noch weitgehend auf die gleichen Stoffe wie der Mensch.

3.5.3 Suche nach tumorauslösenden Effekten im Implantattest

Bei Nagetieren lassen sich praktisch mit allen festen und löslichen Materialien Tumore erzeugen, man muß nur lange genug warten (127) und die Abmessungen der Implantate müssen eine gewisse Größe überschreiten. Mit einer materialabhängigen, durch chemische Noxen induzierten Kanzerogenese hat das wahrscheinlich nichts zu tun, denn bei anderen Tierarten führten solche Versuche nicht zu Tumoren (127).

3.5.4 Hämolysetest

Dieser Test ist ein einfaches, kostengünstiges Verfahren, das schnell und leicht durchzuführen ist. Es können feste, flüssige und pulverförmige Stoffe getestet werden. Die Methode ist jedoch nicht sehr sensibel; die gewonnenen Resultate korrelieren nicht oder nur wenig mit Resultaten anderer Tests. Dieser Test ist daher nach KLÖTZER (89) nicht zu empfehlen.

3.6 Anwendungstests (Usage-Tests)

Es ist zweifelhaft, ob Toxizitäts- und Eliminationstests über Reaktionen der Pulpa nach Kontakt mit Biomaterialien aussagekräftig und reproduzierbar sind.

Die Reaktion der Pulpa beruht nicht allein auf der Irritation durch die toxischen Materialien, andere Faktoren spielen dabei sicherlich eine ebenso große Rolle, wie z.B.:

- Präparationstechnik (schnell laufende Fräsen und Diamant-schleifkörper, Kühlungsproblem (17, 103, 104, 105, 195),
- Dentinschichtdicke (die verbleibende Dentinschicht zwischen Kavitätenboden und Pulpa ist nicht exakt vorauszubestimmen (86, 169),
- besondere Natur der "Dentinwunde" (Irritation der Odontoblastenfortsätze, "Ansaugen" der Fortsätze in die Dentinkanäle beim Beschleifen, Nagelkopfprinzip) (148),
- Alter des Zahnes (sowohl beim Tierversuch als auch bei der klinischen Erprobung beim Menschen liegen in der Regel Zähne verschiedenen Alters vor (17).

3.6.1 Übertragbarkeit

Wissenschaftlich besteht noch keine Einigung über die Übertragbarkeit von Testergebnissen auf den Menschen. Bei Affen können keine wesentlichen Unterschiede der biologischen Reaktionen von Pulpa und Mundschleimhaut zu bekannten Reaktionen am Menschen gefunden werden (91).

Auf die Behandlungstechnik reagieren Affenpulpen allerdings sehr empfindlich.

Die Reaktion der Hundepulpa entsprach der des Menschen bei der Testung von Silikatzementen. Die Hundepulpa hat allerdings größere Gefäße und die Ramifikationen sind wie

bei Affen und Mini-Schweinen stärker ausgeprägt und Heilungsvorgänge laufen 2 bis 3 mal so schnell ab (183, 213).

Bei Ratten ergeben sich Schwierigkeiten wegen der Kleinheit des Operationsgebietes; Rattendentin ist permeabler als menschliches, die Odontoblasten reagieren sensibler.

3.6.2 Pulpareaktionen

Die großen Unterschiede bei Untersuchungsergebnissen in der Literatur in der Beschreibung der Pulpareaktionen lassen sich durch unterschiedliche Versuchsdurchführungen und subjektive Interpretationsmöglichkeiten erklären.

So beschreiben z.B. einige Autoren bei Amalgamen keine oder nur geringe Reaktionen, wie vaskuläre Veränderungen in oder um leicht reduzierte Odontoblastenschichten (20, 103, 114, 148, 167, 168), während andere stärkere Pulpareaktionen beschreiben, wie dichte Anhäufung von Leukozyten zwischen Prädentin, Odontoblastensaum mit gelegentlichen Abzessen (180), Odontoblastenauflösung und Verminderung in Verbindung mit Exsudation (20) und sogar Odontoblastenzerstörung und Auflösung, Hyperämien und Entzündungszellen (64). Die meisten Autoren benutzen intakte menschliche Prämolaren, die aus kieferorthopädischen Gründen gezogen werden sollen.

Gegenüber STANLEY (195), der der Ansicht ist, daß Altersunterschiede keinen großen Einfluß auf Pulpareaktionen haben, spricht jedoch BAUME (17) der Pulpa verminderte Widerstandskraft gegen Beschädigungen mit zunehmenden Alter zu. Der Einfluß der Kavitätenpräparation auf die Pulpa wurde von diversen Autoren histologisch untersucht. Sie sind übereinstimmend der Meinung, daß die thermische Irritation ein Hauptfaktor der Pulpaverletzung ist. Dieses Präparations -

trauma kann jedoch vermindert oder sogar vermieden werden durch die Benutzung entsprechender Wasser-Spray-Kühlung während der Präparation (17, 103, 104, 105, 195).

Auch die Kavitätentiefe ist als äußerst wichtiger Faktor bei Unterschiedlichkeiten der Pulpaveränderung bekannt (17,195).

Je tiefer die Kavität ist, um so mehr Tubuli pro Fläche werden betroffen und um so geringer ist die Distanz zur Pulpa. Die Kavitätentiefe ist von entscheidender Wichtigkeit für das Auftreten von Entzündungszellen in der Pulpa, obwohl z.B. keine Korrelation zur Hg-Eindringtiefe in die Dentinkanäle festgestellt werden konnte (133). Außerdem kann die Dicke der zurückbleibenden Dentinschicht während der Präparation nicht genau kontrolliert werden, muß aber bei histologischen Schnitten gemessen und berücksichtigt werden (86, 169).

Randspalten sind eine zusätzliche Ursache für Pulpairritationen (17, 126). Für dieses Auftreten sind zwei Mechanismen verantwortlich:

1. schlechte Adaptation des Füllungsmaterials an die Zahnhartsubstanz,
2. sekundäre Randspalte, wenn der Kontakt zwischen Füllung und Zahn nach Füllungslegung unterbrochen wird (Kontraktion und Expansion des Amalgams während des Aushärtens; aber auch andere physikalische Eigenschaften, wie verschiedene Ausdehnungskoeffizienzen von Dentin und Füllungsmaterial oder plastische Deformationen des Materials sind dafür verantwortlich). Die Bedeutung dieser Faktoren zeigte GRANAT (63).

Er berichtet, daß sich die verringerten Kondensationskräfte bei der "Wet-Technik" nach JÖRGENSEN vorteilig auf die Pulpa - reaktion auswirken infolge verminderter Druckkräfte.

Wobei jedoch die Gefahr der Schädigung durch das zusätzliche Quecksilber im Amalgam (20, 64) bei Anwendung dieser Technik nicht vernachlässigt werden darf. In Zellkulturuntersuchungen hatte frisch trituriertes Amalgam einen unmittelbar markanten toxischen Effekt, vergleichbar dem des Quecksilbers, und es wurde gezeigt, daß die Zytotoxizität mit der Zeit nach der Trituration abnahm (73, 80). Die Toxizität von Amalgamen hat ihren Grund in der Ausscheidung toxischer Ionen in die Umgebung (78). Das Vorhandensein von Quecksilber im Dentin zeigten MASSELER und BARBER (118) bei Amalgamfüllungen ohne Unterfüllungen, und FRYKHOLM und ODEBLATT (56) bewiesen, daß Quecksilber durch angeschnittene Dentinkanäle Richtung Pulpa diffundiert. Obwohl LANGE LAND bei direktem Kontakt von Amalgam mit Dentin keine akuten oder chronischen Pulpareaktionen angibt (104), beschreiben andere Autoren bei mitteltiefen Kavitäten initiale Pulpareaktionen (20, 64, 114, 119, 148, 180) und begründen diese aber als Folge des auftretenden Kondensationsdrucks (180). Kalziumhydroxyd-Unterfüllung könnte den toxischen Effekt des Amalgams verhindern. MJÖR (127) zeigte, daß normales Dentin stärker mineralisiert, wenn eine Kalziumhydroxydunterfüllung gelegt wurde. Bei klinischen Untersuchungen verursachte Kalziumhydroxyd im Dentin eine ionendichte kristalline Substanz, die sich in den Dentintubuli bis zum Prädentin niederschlägt. Diese Schicht verhindert die Permeabilität und schützt die Pulpa von toxischen Substanzen.

Diese Beobachtungen konnten BRÄNNSTRÖM et.al. (21) nicht bestätigen. Sie berichteten von verschiedenen Permeabilitätsgraden der Dentinkanälchen unter Kalziumhydroxydunterfüllungen.

3.6.3 Usage-Tests an gesunden Zähnen

Im Gegensatz zu Screening-Tests sind Anwendungstests die Untersuchung der Wirkung verschiedener dentaler Materialien auf die Gewebeumgebung, in der sie benutzt werden sollen. Diese Gewebe sind im allgemeinen Pulpa, die gingivalen oder mukosalen Gewebe und die Zahnhartsubstanz. Gemäß den ADA-Empfehlungen müssen Materialien, die bezüglich der Pulpa getestet werden, in Kavitäten in intakten, nicht kariösen Zähnen von Affen oder anderen tauglichen Tieren eingebracht werden.

Es muß eine einheitliche Kavität sorgfältig hergestellt werden, wobei bei optimaler Tiefe 0,5 mm Dentin stehenbleiben soll. 5 Kavitäten werden für jedes Testmaterial und für Kontrollsubstanzen vorbereitet. Die Materialien werden in einer entsprechenden Anzahl anteriorer, posteriorer, maxillärer und mandibulärer Zähne eingebracht. Nach verschiedenen Tragezeiten werden die Zähne in Narkose extrahiert und für histologische Untersuchungen vorbereitet. Als Auswertungshilfe dienen verschiedene Kontrollen, mit denen die Pulpareaktionen auf die Testmaterialien verglichen und klassifiziert werden.

3.6.4 Usage-Tests an Zähnen mit entzündeter Pulpa

Pulpen, die zur Untersuchung dentaler Materialien verwendet werden, sind gesund, da sie sich in intakten, nicht kariösen Zähnen befinden.

Es besteht die Möglichkeit, daß die dentalen Materialien zu unterschiedlichen Verhaltensweisen bei gesunden oder entzündeten Pulpen führen. Aber gerade an durch Karies beeinflussten Pulpen müssen Präparate im menschlichen Körper reagieren. Um darüber Informationen zu gewinnen, wurde ein Modell einer entzündeten Pulpa zur Testung verschiedener Materialien entwickelt.

Zur Vorbereitung der Pulpa-Entzündung wurden verschiedene Verfahren erprobt. Nach bisherigen Erfahrungen werden heute noch 2 Verfahren benutzt:

1. Weiches, kariöses Dentin aus frisch gezogenen menschlichen Zähnen wird auf den Boden einer vorbereiteten Kavität gebracht und 4 bis 7 Tage mit Zement abgedeckt.
2. Eine vorbereitete Kavität wird vorübergehend 4-7 Tage provisorisch mit einer Guttaperchafüllung verschlossen.

Danach werden die Kavitäten wieder eröffnet, getrocknet, Testmaterialien werden appliziert und die Kavität wird verschlossen.

Reaktionen:

Bei Kavitäten nach 1.: Das kariöse Dentin erzeugt schwere, lokalisierte Pulpareaktionen.

Nach 2.: Guttaperchaabgedeckte Kavitäten zeigen leichte bis mäßige Pulpareaktionen

Zur Erzeugung kariösen Dentins wurden verschiedene Versuche mit menschlich kariösem Dentin, Lactobazillus casei und Streptococcus mutans durchgeführt. Die besten Ergebnisse erreichte man mit kariösem Dentin.

Entzündete Pulpen zur Beurteilung von dentalen Materialien werden immer häufiger benutzt, da dieses System der Situation in der Praxis sehr ähnelt. Es wird nicht nur die Pulpa-reaktion ausgewertet, sondern auch Langzeitreaktionen, z.B. Sekundär-Dentinbildung.

3.6.5 Gingivale Reaktionen, Schleimhautirritationstest

Anwendungstests werden bei Menschen und Versuchstieren an den Stellen durchgeführt, die ihrer beabsichtigten Nutzung entsprechen. Füllungsmaterialien z.B. werden auch in subgingivale Kavitäten eingesetzt und die Reaktion der Gingiva ausgewertet. Eine der Schwierigkeiten ist das regelmäßige Vorhandensein von Entzündungen verschiedenster Art in der die Zähne umgebenden Gingiva. Um dieses zu verhindern, wird vor Anlegen der Kavität und Einsetzen des Materials in subgingivale Kavitäten eine Zahnfleisch-Prophylaxe durchgeführt. Es wurde bewiesen, daß primär die bakterielle Plaque der ausschlaggebende Faktor bei Zahnfleischentzündungen ist; das Material selbst, die Oberflächenrauheit des restaurativen Materials, überhängende Füllungsränder oder Unterkonturen dagegen nur sekundäre Faktoren sind, die die Plaqueanlagerung begünstigen. Beim Vergleich der Gingivareaktionen auf sub- und supragingivale Füllungsgruppen fanden sich große Unterschiede zwischen diesen Füllungsgruppen, aber keine Unterschiede im Vergleich von supragingivalen Rändern ohne Füllungen (205).

Im Vergleich von Amalgam mit Silikat- und Autopolymerisatfüllungen beschreibt TREVIDI (205) nach längerer Liegezeit nur geringgradige gingivale Entzündungen bei poliertem Amalgam, ohne Politur waren die Entzündungen jedoch heftiger.

Zusätzliche Schleimhautirritationstests

Hier sollen Materialien geprüft werden, die mit der Mundschleimhaut in Kontakt kommen. Mit Hilfe von Retentionsplatten werden bei Versuchstieren (Ratten, Meerschweinchen, Kaninchen, Hamstern, Affen) über 1 bis 4 Wochen Materialien in Kontakt mit der Gaumenschleimhaut gebracht. Schwierigkeiten macht die Fixierung und Sauberhaltung. Durch Abschupung von Zellen, Anhäufung von Nahrungsresten etc. werden solche Versuche verfälscht. Von KLÖTZER (88) wurde folgendes Verfahren angegeben: Dentale Materialien im Kontakt mit oraler Mukosa werden mittels gegossenen und einzementierten Gaumenplatten bei Affen geprüft, in deren Oberflächen palatinal Testmaterialien eingelagert werden oder mit partiellen Prothesen um das Material mit dem Gaumen in Kontakt zu bringen. Die Reaktion der Mukosa ist ähnlich wie der der Gingiva, nur nicht so intensiv.

Die Materialien sollen nicht weniger als 2 Wochen in Kontakt mit der Schleimhaut bleiben. Aus den exponierten Gebieten werden Biopsien entnommen und histologisch werden pathologische Veränderungen im Gewebe bestimmt.

3.6.6 Weitere Reaktionen auf Amalgamfüllungen

In Kavitäten wird die Pulpa hauptsächlich durch Kalt- und Heißreize infolge der thermischen Leitfähigkeit beeinflusst. In tiefen Kavitäten ist der Schmerz charakteristisch, entzündliche Reaktionen treten nach 3 Tagen auf und sind nach 5 Wochen immer noch sichtbar. Vereinzelt wurde beobachtet, daß Odontoblasten in die Dentintubuli unterhalb der Kavität angesaugt wurden. Reaktionen auf Amalgame in flachen Kavitäten sind minimal. Es gibt einen deutlichen Unterschied in den Pulpareaktionen bei unbehandelten oder Ca (OH)_2 , ZnOE oder lackbehandelten Kavitäten. Verschiedene Gründe für Pulpaschäden kurz nach Applikation von Amalgam ohne Unterfüllungen sind aufgezeigt worden: Die Kondensation der Amalgame irritiert vermutlich die Pulpa genau so wie der thermisch bedingte Irritationsschock, der die Pulpa zur Bildung reparativen Dentins anregt. Es gibt also deutlich verbesserte Resultate, wenn die Kavitäten unterfüllt wurden, und so verursacht Amalgam in der Praxis sehr selten Schäden an der Pulpa.

3.7 Klinische Erprobung und ihre Problematik

Die ethische Forderung, dem Menschen nicht zu schaden, verbietet eine sofortige Erprobung eines neuen Materials direkt am Menschen. Nach vorangegangenen Auswahltests und Anwendungstests bei Tieren, bietet die klinische Erprobung allein die Möglichkeit, ein neues Material abschließend zu beurteilen.

Eine sichere biologische Beurteilung allein durch klinische Beobachtung ist schwierig und langwierig. Denn objektivierbare Reaktionen, wie z.B. Entzündungen, lassen sich, wie schon erwähnt, nicht nur auf einen Auslösefaktor zurückführen.

Allein die histologische Untersuchung ist dazu geeignet, z.B. das Ausmaß einer toxischen Schädigung von Pulpa, periapicalem Gewebe und Schleimhaut zu ermitteln. Aus ethischen Gründen sind menschliche Gewebe zur histologischen Prüfung jedoch nicht in dem für sichere Beurteilung erforderlichen Umfang vorhanden. Es stehen normalerweise nur solche Zähne zur Verfügung, die aus kieferorthopädischen Gründen extrahiert werden müssen. Es handelt sich dabei meist um Zähne jugendlicher Menschen. Bei diesen Zähnen bestehen wesentliche Unterschiede zu denen Erwachsener: Das Wurzelwachstum ist noch nicht abgeschlossen; die Ausdehnung der Pulpa ist größer, dadurch vergrößert sich die Irritationsbereitschaft; man spricht ihr eine größere positive Gewebeantwort zu (17).

Außerdem stehen diese Zähne nicht in erforderlichlichem Umfang zur Verfügung (siehe besondere Bestimmungen des AMG § 40, Versuche an Kindern).

3.8 Korrelation von Screening- und Usage-Tests

Obwohl beide Testtypen bei der Bewertung dentaler Materialien benutzt werden, gibt es kaum Hinweise auf positive Korrelationen. Die Toxizitätsergebnisse der untersuchten Materialien stehen in einem gewissen Abhängigkeitsverhältnis zur benutzten Methode. Auch bei gleichen Kulturtechniken z.B. ergeben sich Unterschiedlichkeiten durch Zusammensetzung der Medien, Konzentration des Testmaterials, Temperatur, Behandlung und Auswertmethoden. Screeningtests werden nicht die gleichen Ergebnisse wie Gebrauchstests ergeben. Werden z.B. drei bekannte dentale Materialien (ZnOE, Composit, Silikatzement) mit

1. Zellwachstumstests (71),
2. ⁵¹Cr-Release (108),
3. Farbstoffaufnahme durch lebende Zellen (61)

getestet, so werden die Ergebnisse relativ übereinstimmen. Werden dann diese drei Materialien unter der Haut im Bindegewebe appliziert, so sind die Reaktionen von ZnOE (130) und Silikatzement leicht, von Composit dagegen mittelschwer (187). Bei einem Anwendungstest in Black-Klasse 5 Kavitäten dagegen ergaben sich große Unterschiede zu den Ergebnissen der

Screening-Tests:

Composit - mittlere Reaktion (205)

ZnOE - keine Reaktion (130).

Ein weiteres Beispiel, bei dem keine Korrelation zwischen einer Pulpareaktion und der des Implantates gefunden werden konnte, war das Silberamalgam: Akute entzündliche Reaktionen bei Implantaten im Bindegewebe, keine Reaktion in Kavitäten.

Die Implantationsstelle im Bindegewebe kann nicht mit der gingivalen Kontaktstelle verglichen werden, an der Plaque, Füllungsrän der und Zahnstein bei der Schleimhautreaktion eine Rolle spielen können. Dagegen sind Bindegewebeimplantat-tests wertvoll zur Auswertung von Implantaten und endodontischen Materialien, die klinisch in Verbindung mit apikalem und periodontalem Bindegewebe benutzt werden. In diesen Fällen ist die Implantatstelle der der Anwendungsstelle so ähnlich, daß die Testergebnisse verglichen werden können. Es ist deshalb erforderlich, daß die adäquatesten Methoden zur Auswahl der Tests und Materialien ausgesucht werden. Kein Screeningtest kann zur Zeit einen Gebrauchstest sicher ersetzen, aber jeder Test allein kann wichtige Informationen liefern.

IV Vergleichende Übersicht der Testergebnisse aus der neueren Literatur

1.0 Fragestellung

Die in der neueren Literatur beschriebenen in vivo-Tests und in vitro-Tests mit Silberamalgamen als Füllungsmaterial wurden speziell unter Berücksichtigung folgender Fragen untersucht:

- wurden Aussagen zur Toxizität gemacht?
- besteht eine Korrelation zu Ergebnissen bei Versuchstieren bzw. Menschen?
- wurden Aussagen zur Korrelation zu anderen Tests gemacht?
- sind die Tests reproduzierbar?
wird die Versuchsdurchführung eindeutig beschrieben?
ist die Versuchsauswertung graduierend oder messend?
sind die Versuchsergebnisse schnell verfügbar?
sind Versuchsdauern angegeben?
- sind bei den Tests Hinweise auf Liegezeiten (Zeit zwischen Trituration und Verwendung) gemacht?
- gibt es Angaben zur Zusammensetzung des Testmaterials?
- wurden Angaben zur statistischen Auswertung gemacht?

2.0 Ausgewertete Arbeiten mit kurzer Inhaltsangabe

2.1 Arbeiten, die Screening-Tests beinhalten

2.1.1 In Vitro-Screening-Tests

61	}	Arbeiten siehe Literaturverzeichnis
71		
79		
85		
107		
108		
145		
146		
147		
227		

Untersuchte Arbeit:

GOLDSCHMIDT, COGEN, TAUBMANN

"Effects of Amalgam corrosion products on human cells" (61)

Testart:	In vitro-Test
Zellkultur:	HeLa-Zellen Menschlich gingivale Fibroblasten Neugeborenenbeschneidungsgewebeprobe
Material+ Methoden:	Zinkfreies Amalgam, sterilisiert Messungen von Zellzerstörung und Zelltod 1. ^{51}Cr -Release (nach TAUBMANN und COGEN) 2. Aminosäureverbindungen-H-Leucine 3. Trypan-Blau-Färbung

Aussagen über:

Toxizität:	Gemessene Einstufung nach 3 Methoden
Korrelation:	Vergleiche zwischen verschiedenen Zellarten wurden angestellt
Reproduzier- barkeit:	Versuchsdurchführung: beschrieben Versuchsauswertung: durchgeführt Versuchsdauer: angegeben
Liegezeiten:	Angabe durch Sterilisation und weitere Behandlung mindestens 48 Stunden
Testmate- rialien:	Zinkfreies Amalgam
Statistik:	Statistische Analysen wurden durchgeführt

Zusammenfassung: (61)

Durch Verwendung von 3 unabhängigen Methoden wurde festgestellt, daß 10^{-4} bis 10^{-6} M Konzentration von Ionen, wahrscheinlich durch Korrosion aus Amalgam freigesetzt, toxische Effekte sowohl auf menschliche gingivale Fibroblasten als auch auf HeLa-Zellen in der Kultur haben.

Bei einer Konzentration von 10^{-5} M Hg^{2+} und Ag^{+} wurde ^{51}Cr -Ausscheidung und Trypan-Blau-Aufnahme beobachtet.

Bei Eluat aus Amalgam und ionischen Lösungen der meisten Metalle, aus denen Amalgam besteht, wurde eine Hemmung der Aminosäureproduktion festgestellt.

Die Ergebnisse zeigen, daß Korrosionsprodukte von Amalgamen in der Lage sind, Schädigungen von Zellen in der Kultur herbeizuführen, wenn sie in ausreichender Konzentration vorliegen.

Untersuchte Arbeit:

HELGELAND, LEIRSKAR

" A further testing of the effect of dental materials on growth and adhesion of animal cells in vitro" (71)

Testart: Screening Tests, Wachstumsinhibitionstests

Zellkultur: Menschlich epitheliale Zellen NCTC 2544,
Eagle's Medium und 10% Kälberserum

Material+ Methoden: Zellwachstum in Abhängigkeit vom Probenalter,
Messung des Glukoseverbrauchs und der Laktat-
produktion in Abhängigkeit vom Zellwachstum.
Proben: Gold, Kunststoff, Silikatcement,
Komposites, Kupfer-Amalgam, Silber-Amalgam

Aussagen über:

Toxizität: Beschreibend, vergleichend, messend

Korrelation: Zu 108 (keine Effekte bei Gold)
zu 78, 108 (Toxizität abnehmend mit der Liegezeit),
starke Toxizität bei Kupfer-Amalgam)

Reprodu-
zierbarkeit: Versuchsdurchführung: beschrieben
Versuchsauswertung: Tabellen, Graphiken,
Signifikantstests
Versuchsdauer: 3 Perioden, bis 6 Tage

Testmate- rialien: Gamma cast Gold,
Biodent K + B. D 21
Heißpolymerisat QC 20 De Trey
Komposite Kunststoff Addent 12
Silikat-Zement De Trey
Kupfer-Amalgam Silbrin
Silber-Amalgam DAB Standard Alloy

Liege-
zeiten: 2 Std.

Statistik: Ergebnisdarstellung in Graphiken und Tabellen
Signifikanztests

Zusammenfassung: (71)

Epithel - Zellen vom Menschen NCTC 2544 wurden kultiviert in Plastik-Petrischalen, die die dentalen Materialien als Prüfkörper enthielten.

Die Wirkung der Materialien auf das Zellwachstum um die Prüfkörper herum und auf der Oberfläche der Prüfkörper wurde durch Zellzählung bestimmt.

Außerdem wurde die Höhe des Glukoseverbrauchs und der Laktatproduktion bestimmt und auf das Zellwachstum bezogen. Bei Gold waren keine Veränderungen zu erkennen.

Toxische Wirkungen waren auf der Oberfläche von QC 20 und Biodent zu finden, um die Prüfkörper herum war das Zellwachstum nicht beeinträchtigt.

In Kulturen mit Silikatzement, Addent 12, Silber-Amalgam und Kupfer-Amalgam war das Wachstum auf den Prüfkörpern und um die Prüfkörper herum reduziert. Der stärkste Effekt trat bei den beiden Amalgamen auf.

Unterschiede zwischen Zellzählung und den metabolischen Parametern zeigen, daß Letztere zur Beurteilung relativer Toxizität dentaler Materialien nur bedingt brauchbar sind.

Untersuchte Arbeit:

KAWAHARA, NAKAMURA, YAMAGAMI, NAKANISHI

"Cellular Responses to Dental Amalgam In Vitro"(79)

Testart: Screening Test, Wachstumsinhibitionstest

Zellkultur: L-Fibroblasten aus subcutanem Gewebe von C3H
Mäusen, kultiviert im YLH-Medium mit 10% Kälberserum.

Material+ Zn-freies Amalgam

Methoden: 3 Experimente:

1. mit sphärischem Alloy (Alloy-Hg-Verhältnis 5:4),
mit microcut-Alloy (" " " 5:8),

2. beide Amalgame mit Alloy-Hg-Verhältnis 5:8,

3. mit sphärischem Alloy und verschiedenen
Alloy-Hg-Verhältnissen 5:4, 5:8, 5:10,

verschiedene Liegezeiten, Zellwachstum durch nukleare
Zellzählung ausgewertet, Inkubationszeit 1, 2, 4, 7 d.

Aussagen über:

Toxizität: Toxizitätsveränderungen in Abhängigkeit von der Liegezeit und Alloy-Hg-Verhältnis der verschiedenen Amalgame graduierend vergleichend

Korrelation: Schwierig, da verschiedene Alloy-Hg-Verhältnisse, Vergleich mit verschiedenen Liegezeiten möglich

Reproduzierbarkeit: Versuchsdurchführung: beschrieben
Versuchsauswertung: Tabellen, Graphiken, Fotos
Versuchsdauer: 7 Tage Inkubation + Liegezeit

Testmaterialien: Zinkfreies Kugelamalgam, Luna atomic (RX 7)
Zinkfreies Fine cut Amalgam, Luna alloy (CM 22)
Verschiedene Alloy-Hg-Verhältnisse

Liegezeiten: Sofort nach Trituration, 1, 2, 3, 6, 8, 24 h nach Trit.

Statistik: Ergebnisdarstellung in Tabellen und Graphiken
Signifikanztests neg.

Zusammenfassung: (79)

Um die Cytotoxizität von spherical- und fine cut-Amalgam zu untersuchen, wurde ein Zellsystem mit L-Fibroblasten benutzt. Testproben beider Alloys wurden mit verschiedenen Mengen Hg trituriert und separat mit Zellen in Kontakt gebracht (bis zu 7 Tagen).

Es dauerte bei fine cut-Amalgam 24 Std. nach der Trituration bis die Cytotoxizität nahezu völlig verschwunden war, jedoch nur 2 Std. bei spherical-Amalgam. In gleichem Alloy-Hg-Verhältnis trituriert zeigten beide Amalgame deutlich unterschiedliche Ergebnisse.

3 Std. nach Trituration unterdrückte fine cut-Amalgam das Zellwachstum erheblich, spherical-Amalgam jedoch nahezu gar nicht. Erhöhte Mengen Hg in spherical-Amalgam erhöhten die Cytotoxizität. Spherical-Amalgam mit doppelt höherem Hg - als Alloy-Anteil jedoch unterdrückte das Zellwachstum nicht vollständig. Die Verminderung der Cytotoxizität könnte nach Meinung des Autors

- der Überdeckung des Amalgams mit mit γ_1 und γ_2 -Alloy-Phase oder
- der Korrosionsverminderung der Ag enthaltenen Phase oder
- der Überziehung des Amalgams mit einer oxydierten Sn-Schicht zugeordnet werden.

Untersuchte Arbeit:

KELLNER, KERESZTESI

"Die Wirkung metallischer Wurzelfüllmaterialien auf
Zellkulturen" (85)

Testart: Wachstumsinhibitionstest, Hühnerfibroblasten

Zellkultur: Hühnerextremitätenmesenchym von 11 Tage alten
Embryonen, Nährmedium: Hühnerplasma, Hühnerembryonal-
extrakt

Material+ Methoden: Silberamalgam, Kupferamalgam, New Biofil, Karate pur,
Pellet Feingold;
WIT, Zellwachstumskontrolle um die Proben herum
gegen 2 Mutterstückchen-Zellen, Randschleier des
Zellrasens durch Proben im Wachstum beeinflußt.

Aussagen über:

Toxizität: Beschreibend, vergleichend, histologische Präparate

Korrelation: Zu klinischen Befunden

Reprodu-		
zierbarkeit:	Versuchsdurchführung:	beschrieben
	Versuchsauswertung:	Tabellen, Präparate,
	Versuchsdauer:	4 Tage Inkubationszeit + Liegezeit

Testmate- rialien: Siehe oben

Liegezeiten: 14, 20, 36, 39 Tage

Statistik: Ergebnisse in Tabellen

Zusammenfassung: (85)

Es wurde die Wirkung der derzeit zur retrograden Wurzelfüllung empfohlenen metallischen Füllungsmaterialien - Silberamalgam, Kupferamalgam und Feingold in Form von Pelletgold und der neuen Stopfgolde New Biofil und Karate pur - auf in Deckglaskulturen gezüchtete Fibroblasten untersucht. Die Auswertung der Gewebekulturen erfolgte in morphologischer als auch in quantitativer Hinsicht.

Silberamalgam und chemisch reines Feingold verursachten nur geringe Wachstumshemmungen, ohne die Morphologie der Zellen grob zu verändern.

Kupferamalgam, New Biofil und Karate pur erwiesen sich als cytotoxisch, weshalb vor der Anwendung im Kontakt mit lebendem Gewebe abgeraten wird.

In einem Bimetall-Versuch, mit Silberamalgam und Feingold (Karate pur), konnte gezeigt werden, daß das Wachstum der Zellen über die rein substantielle Wirkung einzelner metallischer Füllungsmaterialien hinaus durch elektrochemische Vorgänge gehemmt werden kann.

Untersuchte Arbeit:

LEIRSKAR

"On the mechanism of cytotoxicity of silver and copper amalgams in a cell culture system" (107)

Testart: Screening-Test, Wachstumsinhibitionstest

Zellkultur: Menschlich epitheliale Zellen NCTC 2544,

Material+ Methoden: Monolayer mit $0,7 \cdot 10^6$ Zellen in Eagle's Medium mit 10% Kälberserum inkubiert mit CO_2 Atmosphäre, Spuren von Ag, Hg, Cu, Cd, Zn, Sn in den Kulturmedien werden mittels eines Atom-Absorptions-Spektrofotometer gemessen

Aussagen über:

Toxizität: Der Effekt von Kupfer- und Silber-Amalgam wurde durch Zellzählung auf den und um die Probekörper herum nach 1 und 3 Tagen nach Inkubation festgestellt.

Korrelation: Zu Zn Toxizitätsmessungen
Übereinstimmung mit Ergebnissen in 71 und 108

Reproduzierbarkeit: Versuchsdurchführung: beschrieben
Versuchsauswertung: Tabellen
Versuchsdauer: 3 Tage Inkubationszeit

Testmaterialien: Silberamalgam, DAB Standard Alloy
Kupferamalgam, Silbrin

Liegezeiten: Keine Angaben

Statistik: Ergebnisstatistik in Tabellen

Zusammenfassung: (107)

Ziel der vorliegenden Arbeit: Mechanismus der Cytotoxizität von Silber- und Kupfer-Amalgamen durch

1. Messung der Freisetzung von Amalgambestandteilen in das Kulturmedium
2. Auswertung des cytotoxischen Effektes der korrespondierenden Metallkationen

Silber- und Kupfer-Amalgame zeigen einen betont toxischen Effekt auf Monolayer-Kulturen menschlich epithelialer Zellen (NCTC 2544). Analysen des Mediums aus Silber-Amalgam-Kulturen zeigten, daß Zink in erheblichen Mengen ($14 \mu\text{g/ml}$ nach 24 Std. Inkubationszeit) frei wurde. Auch kleine Mengen Hg und möglicherweise auch Ag wurden freigesetzt. Cu und Sn konnten nicht festgestellt werden. Toxikologische Tests zeigten, daß $10 \mu\text{g/ml Zn}^{2+}$ nach 24 Std. die Anzahl der Zellen um 96% verringern.

In Kupfer-Amalgam-Kulturen wurden etwa $100 \mu\text{g/ml Cu}$ und $5 \mu\text{g/ml Cd}$ im Medium nach 24 Std. gefunden, aber nur geringe Mengen Hg. Die Toxizitätstests zeigten zunehmende Effekte des Cu^{2+} und Cd^{2+} mit der Zeit.

Mit $50 \mu\text{g/ml Cu}^{2+}$ wurde die Anzahl der Zellen nach 24 Std. um 73% reduziert, nach 3 Tg. ergab sich ein vergleichbarer Effekt mit $25 \mu\text{g/ml}$.

$10 \mu\text{g/ml Cd}^{2+}$ zerstörte alle Zellen nach 24 Std., wohingegen $1 \mu\text{g/ml Cd}^{2+}$ nach 3 Tagen das Zellwachstum um mehr als 80% reduzierte.

Untersuchte Arbeit:

LEIRSKAR, HELGELAND

"A methodologic study of the effect of dental materials on growth and adhesion of animal cells in vitro" (108)

Testart: Screening Test, Wachstumsinhibitionstest

Zellkultur: Menschlich epitheliale Zellen NCTC 2544,
Maus-Fibroblasten L 929

Material+ Methoden: Wachstum auf und um Probekörper herum aus
Gold-Alloy, Silber-Amalgam, Kupfer-Amalgam,
Heißpolymerisat OC 20, Biodent K + B, Silikatzement,
Addent 12, wird bestimmt durch Zellzählung und Messung
des DNA-Gehaltes im Hämocytometer.

Aussagen über:

Toxizität: Graduierend, messend, vergleichend

Korrelation: Zwischen L 929 und NCTC 2544
Zu 107, 205

Reprodu-	Versuchsdurchführung:	beschrieben
zierbarkeit:	Versuchsauswertung:	Tabellen, Graphiken, Signifikanztests
	Versuchsdauer:	1, 3, 6 Tg. Inkubation

Testmate- rialien: Gamma cast Gold,
Silber-Amalgam, DAB-Standard-Alloy
Kupfer-Amalgam, Silbrin,
Heißpolymerisat, OC 20,
" , Biodent K+B D 21,
Silikatzement, Biotrey 9,
Kaltpolymerisat, Addent 12,

Liege- zeiten: 6 Tg, dann Inkubation

Statistik: Ergebnisdarstellung in Graphiken und Tabellen
Signifikanzanalysen

Zusammenfassung: (108)

Ein Wachstumsinhibitionstest wurde benutzt, um die Möglichkeit zu untersuchen, menschliche und tierische Zellen in Gegenwart dentaler Materialien wachsen zu lassen. Außerdem soll das Anhaften und das Wachstum auf der Oberfläche dieser Materialien während eines Langzeitkontaktes untersucht werden.

Probekörper verschiedener Materialien (s.o.) wurden in die Mitte von Plastik-Petrischalen gebracht und zusammen mit sowohl menschlich epithelialen Zellen NCTC 2544 als auch Mäuse-Fibroblasten L 929 inkubiert.

Das Wachstum auf den Proben und um die Probekörper herum wurde durch Bestimmung der DNA und durch Zellzählung gemessen. Die Kulturen wurden mit Kristallviolett gefärbt, um die Verteilung der Zellen sichtbar zu machen.

Bei den Gold-Alloy-Proben war das Wachstum ähnlich so groß wie bei den Kontroll-Kulturen, wohingegen die anderen getesteten Materialien verschieden starke Toxizität zeigten.

Bei den beiden Heißpolymerisaten wurde eine zeitlich begrenzte Toxizität auf der Oberfläche der Proben beobachtet.

Bei Silikatzement waren unterschiedliche Abstufungen des Wachstums auf und um die Proben herum sichtbar. Der toxische Effekt des Silber-Amalgams war offensichtlich auf der Oberfläche und in der engeren Umgebung der Proben.

Bei Addent 12 und Kupfer-Amalgam zeigte sich ein genereller toxischer Effekt. Die beschriebene Methode kann vielleicht bei der Beurteilung der Gewebeverträglichkeit von Biomaterialien von Wert sein.

Untersuchte Arbeit:

NUNEZ, SCHMALZ, HEMBREE

"Influence of Amalgam, Alloy and Mercury on the in Vitro
Growth of Streptococcus mutans:

I. Biological Test System" (145)

Testart: In Vitro Screening-Test
Wachstumsinhibitionstest

Zellkultur: Streptococcus mutans, Zell-Linie HS-6

Material+
Methoden: Sphärisches Alloy in Pellet-Form,
dreifach destilliertes Hg,
Alloy-Hg-Verhältnis 1:1
Zellkultur in 3 GM Rindfleischextrakt und
20 GM Dextrose/1 destillierten
deionisierten Wassers, Metallproben sterilisiert,
spektrometische Untersuchungen= %-Satz der
Lichtdurchlässigkeit bei 520 nm in Bezug auf
das Wachstum der Kultur.

Aussagen über:

Toxizität: Tox.-Unterschiede gradierend, vergleichend,
abhängig von der Menge des Materials

Korrelation: Keine Aussage

Reprodu- Versuchsdurchführung: beschrieben
zierbarkeit: Versuchsauswertung: in Graphiken
Versuchsdauer: 80 Stunden

Testmate- Aspherical alloy,
rialien:

Liegezeiten: 40 min. (Sterilisation in UV)

Statistik: Ergebnisdarstellung in Graphiken

Zusammenfassung: (145)

Ziel der Arbeit: Entwicklung einer Verfahrensweise zur Bestimmung der Wirkung von Amalgam und seiner Komponenten auf das Streptococcus mutans - Wachstum in vitro unter kontrollierten experimentellen Bedingungen.

Im Gegensatz zum weit verbreiteten Streptococcus mutans-Wachstumsmedium Thioglycollat benutzten die Verfasser Baktodextrose mit Rindfleischextrakt.

Weil das Thioglycollat häufig als Zusatz zur Inaktivierung quecksilberhaltiger Medikamente benutzt wird, der Sinn dieser Untersuchung aber die Wirkung des Amalgams auf bakterielles Wachstum sein soll, kann Thioglycollat nicht als geeignetes Medium angesehen werden.

Baktodextrose mit Rindfleischextrakt wird als sehr gutes Medium für die Kultivierung von Streptococcus mutans empfohlen, da es eine geeignete Umgebung für das Wachstum der HS-6-Zelllinie darstellt.

Spektrophotometische Messungen bieten eine einfache, schnelle und schonende Möglichkeit der Beobachtung während der Wachstumsperiode ohne große Störung.

Es wurde herausgefunden, daß die Wachstumsreaktion auf die Testverfahren in sensitiver Abhängigkeit von den unterschiedlichen Mengen des zugeführten Amalgams oder Alloys steht. Diese Versuche stellen daher eine akzeptable Möglichkeit zum Vergleich verschiedener Amalgame auf das in vitro-Wachstum des Streptococcus mutans dar.

Untersuchte Arbeit:

NUNEZ, SCHMALZ, HEMBREE, HULETT

"Influence of Amalgam, Alloy, and Mercury on the In Vitro Growth of Streptococcus mutans: II. Comparison of Amalgams and Alloys" (14

Testart: In vitro Screening-Test
Wachstumsinhibitionstest

Zellkultur: wie (145)

Material+ sphärisches Alloy, Spheralloy,
Methoden: Kerr Manufacturing Co.
fine cut Alloy, Kaulk -Alloy Fine Cut
L.D.Caulk Co.
Dispersions-Alloy, Dispersalloy,
Johnson+Johnson
Sonst wie (145)

Aussagen über:

Toxizität: Tox.-Unterschiede gradierend, vergleichend,
getrennt nach Alloy und Amalgam

Korrelation: Korr. zu KAWAHARA nicht möglich, da verschiedene
Alloy-Hg-Verhältnisse

Reprodu- wie (145)
zierbarkeit:

Testmate- sie Material und Methoden
rialien:

Liegezeiten: siehe (145)

Statistik: Varianzanalysen, Signifikanztests,
Graphiken, Tabellen

Zusammenfassung: (146)

Der Einfluß dreier A l l o y s und deren A m a l g a m e auf das in vitro Wachstum von Streptococcus mutans wurde bestimmt. Es wurde ein sphärisches Alloy, ein fine cut Alloy und ein Dispersions-Alloy und die daraus hergestellten Amalgame geprüft.

Ergebnis: Es bestehen kleine Differenzen in der Wachstums-
hemmung von Streptococcus mutans bei sphärischem Alloy und fine cut Alloy; eine wesentlich geringere noch bei Dispersionsalloy. Bei den aus diesen Alloys hergestellten Amalgamen zeigen das aus sphärischem Alloy und aus fine cut Alloy dieselbe Wachstums-
hemmung, Amalgame aus Dispersionsalloy jedoch die größte Wachstums-
hemmung.

Bei den Alloy scheint die chemische Zusammensetzung der Legierung die Reihenfolge der Wachstums-
hemmung logisch zu erklären: Das Verhältnis von Ag : Sn von ca. 2 : 1 in allen Alloys und die totale Menge von Ag + Sn entsprechen in dieser Reihenfolge der Größe der Wachstums-
hemmung: fine cut - sphärisch - Dispersion.

Der Unterschied bei den Amalgamen (Dispersion - sphärisch - fine cut) ist durch Elementenanalyse nicht zu erklären. SARKAR untersuchte die Veränderungen der Phasenzusammensetzungen im Verlauf der Zeit. Die Autoren vermuten, daß die Anfangsphasenzusammensetzung von Dispersions-Alloy-Amalgam sich in einer größeren Wachstums-
hemmung niederschlägt. Diese eine Phase kann dann erheblich toxischer sein als die folgenden, was noch zu beweisen wäre.

Untersuchte Arbeit:

NUNEZ, SCHMALZ, HEMBREE

"Influence of Amalgam, Alloy, and Hg on the In Vitro Growth
of Streptococcus mutans: III. Effect of Specimen
Age and Composition" (147)

Testart: In vitro Screening Test,
Wachstumsinhibitionstest

Zellkultur: wie 145, 146

Material+
Methoden: wie 145, 146, jedoch unter zusätzlicher
Berücksichtigung des Probenalters und
des Alloy-Hg-Verhältnisses

Aussagen über:

Toxizität: In Abhängigkeit vom Probenalter und
vom Alloy-Hg-Verhältnis gradierend,
vergleichend

Korrelation: Keine Aussage

Reprodu-
zierbarkeit: wie 145, 146

Liegezeiten: 2 Std. 24 Std, 72 Std.,
30 min, 90 min

Statistik: Ergebnisdarstellung in Graphiken
und Tabellen, Signifikanztests

Zusammenfassung:

(147)

Im Gegensatz zu den Versuchen in 145, 146, in denen die Liegezeit (Zeitraum von der Trituration bis zur Inkubation) bei allen Versuchen gleich war (mind. Alter = 40 min. Sterilisation), wird in diesen Versuchen das Probenalter als variable Größe eingesetzt.

Außerdem wurde die Hg-Menge variiert und der sich daraus ergebende Effekt untersucht.

Bei einer Liegezeit von 2 Stunden hatte Dispersionsalloy eine deutlich höhere Wachstumshemmung als fine cut Alloy und sphärisches Alloy. Bei 24 Stunden Alterungszeit ergaben sich nur kleine Unterschiede und bei 72 Stunden war die Wachstumshemmung bei allen Alloys etwa gleich.

Bei der Untersuchung des Kurzzeitalterungseffekts mit sphärischem Amalgam wird festgestellt, daß die Wachstumshemmung bei weniger als 30 min sehr stark ist, sich bis bei 90 min jedoch stark vermindert, obwohl immer noch etwas Hemmung zu erkennen ist.

Um den Einfluß des Hg-Anteiles zu untersuchen, wurden fine cut Amalgam und Dispersionsamalgam mit 48 und 52% Hg-Anteil und 1 Stunde, 24 Stunden und 72 Stunden alten Proben getestet. Der Effekt der starken Wachstumshemmung bei Kurzzeitalterung wird wieder beobachtet, besonders bei Dispersionsamalgamen. Es gibt keine signifikanten Unterschiede bei beiden Amalgamen bezüglich der Wachstumshemmung zwischen 48 und 52% Hg-Anteil und 72 Stunden Probenalter.

Die Liegezeiten der Amalgame haben den größten Einfluß auf die Wachstumshemmungen. Kurz nach der Trituration ist sie sehr groß, verliert sich aber schnell mit dem Alter der Probe. Die unterschiedlichen Amalgame verlieren diese Eigenschaft sehr schnell. Der Hg-Anteil im geprüften Rahmen hat keinen Einfluß auf die Wachstumshemmung.

Untersuchte Arbeit:

ZEMKE

"Untersuchungen zur Toxizitätsprüfung von Dentalamalgamen
in menschlichen embryonalen Fibroblasten" (227)

Testart: In vitro-Test, Methylzellulose-Overlay-Diffusionstest

Zellkultur: F 2 H-Zellen (Hautfibroblasten des Feten Nr. 2)
10. bis 15. Passage

Material+ Methoden: 6 handelsübliche Amalgame, darunter 2 Non-Gamma-2-
Amalgame, Referenzmaterialien: negative Kontrolle,
Dentallegierung CrCoMo-Guß;
positive Kontrolle: Quecksilber;
Agar Overlay - Diffusionsmethode;
hier: Methylzellulose-Overlay

Aussagen über:

Toxizität: Gemessene Einstufung

Korrelation: Zum menschlichen Organismus, da diploide Zellen

Reprodu- Versuchsdurchführung: beschrieben
zierbarkeit: Versuchsauswertung: durchgeführt
Versuchsdauer: angegeben

Testmate- 6 handelsübliche Amalgame, nicht benannt,
rialen: dem Autor bekannt

Liege- Es wurde mit verschiedenen Liegezeiten
zeiten: gearbeitet

Statistik: Ausführliche statistische Analysen
und Signifikanztests

Zusammenfassung: (227)

Durch Versuche mit menschlichen embryonalen Fibroblasten wurde eine leicht reproduzierbare Methode entwickelt, die es gestattet, in vitro die Toxizität von Dentalamalgamen zu untersuchen, quantitativ zu erfassen und Vergleiche mit anderen Werkstoffen durchzuführen. Die Agar Overlay-Diffusionsmethode wurde hier als Methylzellulose-Overlay-Methode abgewandelt.

Als Referenzmaterial diente eine nicht toxische Dental-Guß-Legierung (CrCoMo). Eine weitere Kontrolle war das stark toxische Quecksilber. Es wurden 6 handelsübliche Amalgame, darunter neue Non-Gamma-2-Amalgame untersucht und miteinander und mit den Referenzproben verglichen. Bei einigen Amalgamen ergaben sich signifikante Toxizitätsunterschiede. Die Non-Gamma-2-Amalgame besaßen eine mittlere Toxizität und lagen zwischen den stärker schädigenden zinkhaltigen und den weniger toxischen zinkfreien Amalgamen. Zwei Amalgamsorten wurden zu weiteren Versuchen herangezogen. Bei diesen Untersuchungen stellte sich eine Abhängigkeit der Toxizität vom Alter der Prüfkörper heraus. Auf Grund statistischer Berechnungen konnte festgestellt werden, daß die Toxizität unterschiedlicher Amalgame mit fortschreitendem Alter verschieden stark abnimmt.

2.1.2 In Vivo Screening-Tests

46	}	Arbeiten siehe Literaturverzeichnis
110		
130		
137		
184		
187		

Untersuchte Arbeit:

ELLENDER, HAM, HARCOURT

" Toxic effects of dental amalgam implants. Optical
histological and histochemical observations" (46)

Testart: In vivo - Screening Test
Implantation bei Ratten, suprascapular Region

Zellkultur: -

Material+ Methoden: Amalgam, Referenzmaterial Porzellan
2 Gruppen Albino-Ratten
1, 2, 4, 7, 14, 28, 50, 100 Tage Beobachtungszeit

Aussagen über:

Toxizität: Vergleichend, beschreibend nach histologischen
Präparaten

Korrelation: Zu in vitro-Tests 61, 79, 107

Reprodu- Versuchsdurchführung: beschrieben
zierbarkeit: Versuchsauswertung: Graphiken, histologische
Präparate
Versuchsdauer: 1 bis 100 Tage Beobachtung
zeit

Testmate- Amalgam, Ultracap
rialien:

Liegezeit: Kein Hinweis

Statistik: Graphik

Zusammenfassung: (46)

Dentale Amalgame und Kontrollen aus Porzellan wurden in subcutanes Bindegewebe von Ratten implantiert (in der Schulterblattregion).

Die Amalgamimplantate verursachten einen toxischen Effekt durch Freisetzung von Metallionen, die sich charakteristisch manifestierte in

- früher akuter entzündlicher Reaktion
- interstitieller Oedembildung
- verzögerter Granulationsbildung
- dauerhaftem akutem entzündlichen Infiltrat.

Nach 14 Tagen zeigten sich Entzündungszellen, die Fibroblastenentwicklung war verzögert.

Nach 28 Tagen zeigten sich rezidivierende Entzündungen und große Kapseln schwach orientierten Kollagens.

Die Porzellankontrollen dagegen zeigten nach unkompliziertem Verheilen der Wunden mononukleare Zellen.

Nach 28 Tagen war die Probe von dünnem Kollagen umschlossen, nach 50 Tagen zeigte sich eine starke Kapselbildung.

Untersuchte Arbeit:

LIGGETT, BRADY, TSAKNIS, DEL RIO,

"Light microscopy, scanning electron microscopy, and
microprobe analysis of bone response to zinc and nonzinc
amalgam implants" (110)

Testart: In vivo-Screening Test, Implantation
im Schienbein von Ratten

Zellkultur: -

Material+ Methoden: Zn-haltiges Amalgam,
Zn-freies Amalgam,
Freies Schienbein als Referenzprobe, ohne
Implantat aber chirurgisch behandelt

Aussagen über:

Toxizität: Histologisch, vergleichend mit Kontrolle

Korrelation: Keine Angaben

Reprodu- Versuchsdurchführung: beschrieben
zierbarkeit Versuchsauswertung: Histologische Präparate
Versuchsdauer: 3 bis 12 Wochen

Testmate- Zn-haltiges Amalgam
rialien: Zn-freies Amalgam

Liegezeiten: keine, sofortige Implantation

Statistik: Kein Hinweis auf statistische Auswertung

Zusammenfassung:

(110)

Frisch triturierte, nicht abgebundene zinkfreie und zinkhaltige Amalgame wurden in das rechte Schienbein von 32 Ratten implantiert. Die Hälfte der Proben wurden mit Lichtmikroskop, die andere Hälfte mit Elektronenmikroskop und Röntgenmikroprobenanalyse untersucht.

Das Ergebnis zeigt, daß Amalgam an der Knochenhaut der Ratten gut vertragen wird und daß es keine histologischen Reaktionsunterschiede zwischen zinkhaltigem und zinkfreiem Amalgam gibt.

Die Oberflächen der Implantate waren nach 3 Wochen von einem organischen Film bedeckt, später mit Knochen. Sehr geringe, auf der Oberfläche der Amalgame gefundene Korrosionsprodukte enthielten Schwefel. An das Amalgam angrenzender Knochen enthielt Zink und Schwefel unabhängig vom Vorhandensein von Zink im Alloy, was keine Indikation für eine Emigration spezifischer Komponenten des Alloys ist.

Untersuchte Arbeit:

MJÖR, ERIKSEN, HAUGEN, SKODEDAL

"Biologic assessment of copper-containing amalgams" (130)

I. Teil: siehe auch S. 91

Testart: In vivo Usage-Test
Pulpauntersuchung nach Kavitätenfüllung
bei Affen

Zellkultur: -

Material+ 54 Klasse V Kavitäten, 1 bis 3 Monate
Methoden: Beobachtungszeit. Histologische Untersuchung.
Kupfer-Amalgam, Silber-Amalgam (hochkupfer-
haltig), Referenzproben ZOE,
konventionelles Ag-Sn-Amalgam

Aussagen über:

Toxizität: Graduierend, beschreibend,
Histologische Präparate

Korrelation: Zu in vivo-Screening-Test
Implantationstest (130)

Reprodu-
zierbarkeit: Versuchsdurchführung: beschrieben
Versuchsauswertung: Histologische Präpa-
rate
Versuchsdauer: 1 bis 3 Monate

Testmate- Kupferamalgam, Neo Silbrin, 31% Cu, 67% Hg
rialien: Hochkupferhaltiges Silber-Amalgam, 40% Ag,
30% Sn, 30% Cu
Zinkoxyd-Eugenol
Konventionelles Ag Sn-Amalgam

Liegezeiten: Keine, sofortige Applikation, da Usage-Test

Statistik: Kein Hinweis auf statistische
Auswertungen

Zusammenfassung: (130)

Aus materialtechnischen Gründen wurden neue Legierungen mit höheren Kupferanteilen eingeführt. Füllungen mit diesen Materialien wurden in Kavitäten gelegt, die in Milchzähnen von Affen präpariert worden waren, oder sie wurden in seitlich offene Polyäthylenröhrchen placiert und bei Ratten subkutan implantiert. Als Bezugsmaterialien dienten konventionelle Silber-Zinn-Legierungen und Zinkoxyd-Eugenol-Zement. Trotz Einschränkungen infolge verschiedener Kavitätentiefen und der geringen Anzahl behandelter Tiere konnte gefolgert werden, daß Legierungen mit hohem Kupfergehalt mehr ernste Pulpaschäden verursachen als die übrigen untersuchten Materialien. Bei den Implantationsstudien wurden viele Proben mit hohem Kupfergehalt noch vor Abschluß des Untersuchungszeitraums abgestoßen. Daraus wird geschlossen, daß diese Materialien bei tiefen Kavitäten die Verwendung einer nicht-toxischen Unterfüllung erforderlich machen, obwohl das Legen der Unterfüllungen und die Isolierung der Kavität Probleme auftreten lassen, da sie häufig auch bei den Zähnen jüngerer Kinder verwendet werden, mit entsprechend geringerer Kavitäten-Tiefe.

Untersuchte Arbeit:

NAGEM-FILHO, ARAUJO, CHIODI-NETTO, VIEIRA

"Tissue reaction to dispersion alloy amalgam" (137)

Testart: In vivo Screening-Test
Implantation bei Ratten

Zellkultur: -

Material+ Fine cut Alloy, sphärisches Alloy,
Methoden: Dispersions-Alloy
Probekörper 10 mm, 2 mm Durchmesser,
Subdermales Implantat bei Ratten im Rücken,
Schulterblatt und Bauch; Beurteilung der Bindegewebs-
reaktionen um die Prüfkörper

Aussagen über:

Toxizität: Gradierende, beschreibende Einstufung
Histologische Präparate

Korrelation: Keine Hinweise

Reprodu-
zierbarkeit: Versuchsdurchführung: beschrieben
Versuchsauswertung: Histologische Präparate
Versuchsdauer: bis 32 Tage

Testmate- Fine cut-Alloy
rialien: Spheralloy
Dispersalloy
Alloy-Hg-Verhältnis 1:1

Liegezeiten: Kein Hinweis

Statistik: Keine Analysen

Zusammenfassung: (137)

Implantate von Dental-Silber-Amalgamen in Rattenbindegewebe sind toxisch in den ersten 16 Tagen (fibrinöse Kapsel mit Makrophagen und Fibroblasten um die Proben).

Nach 32 Tagen werden die Implantate toleriert (kapilläre Proliferation in der Kapsel um das Implantat, Makrophagen und Riesenzellen, geringe Entzündung dauert noch an).

Der größere Kupferanteil beim Dispersalloy verursacht keine stärkere Gewebeantwort als bei den anderen Amalgamen zu beobachten waren.

Untersuchte Arbeit:

SCHMALZ, EURICH

"Biologische und physikalische Untersuchung über ein
neues Alloy zur Darstellung eines Gamma-2-freien Amalgams" (184)

Testart: In vivo-Test
Implantation beim Kaninchen

Zellkultur: -

Material+ Konventionelles Amalgam mit zusätzlicher,
Methoden: dünner Kupferbeschichtung des Alloys.
Implantation in der Rückenmuskulatur von
Kaninchen, negative Kontrolle = glasiertes
Porzellan; positive Kontrolle = PVC

Aussagen über:

Toxizität: Gradierend, beschreibende Einstufung
Histologische Untersuchung

Korrelation: Zu anderen getesteten Materialien

Reprodu- Versuchsdurchführung: beschrieben
zierbarkeit: Versuchsauswertung: durchgeführt
Versuchsdauer: 7 Tage + Liegezeit

Liegezeiten: 3 Min., 1 Stunde, 1 Tag, 1 Woche

Statistik: Ausführliche statistische Auswertung

Zusammenfassung: (184)

Es werden physikalische und biologische Eigenschaften sowie das klinische Verhalten eines neuen Legierungspulvers zur Darstellung eines Gamma-2-freien Amalgams untersucht. Die physikalischen Werte übertreffen die Anforderungen der DIN-Norm 13904.

Das Gefüge des aus dem Untersuchungsallloy dargestellten Amalgams enthält im Vergleich zu anderen Gamma-2-freien Amalgamen außer der γ -Phase keine weiteren kupferhaltigen Phasen, die das elektrochemische Geschehen innerhalb des Amalgamgefüges negativ beeinflussen könnten. Im Kaninchen-Implantations-Test reagierte das aus dem Untersuchungsmaterial dargestellte Amalgam ebenso wie ein bereits in früheren Untersuchungen getestetes auf dem Markt befindliches Material. Bei der klinischen Überprüfung zeigte sich kein Unterschied in der Verarbeitbarkeit zu dem erwähnten Vergleichsmaterial. Abschließende klinische Resultate nach Ablauf längerer Tragezeit sind abzuwarten.

Untersuchte Arbeit:

SCHMALZ, G., SCHMALZ, Ch.

" Toxicity tests on dental filling materials" (187)

Testart: Implantations Tests

Zellkultur: -

Material+ 2 Amalgame, 2 Composites
Methoden: Implantation im Kaninchenmuskel, Beobachtungs-
zeit 7 Tage, makroskopische und mikroskopische
Beurteilung

Aussagen über:

Toxizität: Nach Schema beschreibend, vergleichend, gradierend

Korrelation: Mit klinischen Erfahrungen

Reproduzier- Versuchsdurchführung: beschrieben
barkeit: Versuchsauswertung: histologische Präparate,
Tabellen
Versuchsdauer: 7 Tage + bis 7 Tage Liegezeit

Testmate- Fine cut Alloy-Amalgam, Amalcap,
rialien: Spherical Alloy Amalgam, Spher-A-Cap,
Hochkupferhaltiges 2-Komponentenamalgam,
Amalcap non Gamma -2
Konventionelles Composite, Compocap,
Composite mit organischem Füller, Isopast

Liegezeiten: 5 min, 60 min, 1 Tag, 7 Tage

Statistik: Tabellen, Signifikanzanalysen

Zusammenfassung: (187)

Der Kaninchenmuskel-Implantationstest, wie er von LAWRENCE et.al. beschrieben wurde, ist angewandt worden, um die akute, unspezifische Toxizität von 3 Amalgamen und 2 Composite-Materialien zu untersuchen. Dabei wurde sowohl die Toxizität der Materialien wie die Eignung der angewendeten Methoden getestet.

Die Materialien wurden nach verschiedenen Alterungszeiten untersucht: 5 min, 1 Stunde, 24 Stunden und 7 Tage.

Es wurde eine makroskopische und mikroskopische Untersuchung durchgeführt. Die biologischen Reaktionen auf die Amalgame zeigten eine Abhängigkeit von der Alterungszeit (Liegezeit).

Alle Amalgame waren stark toxisch nach 5 min und 1 Stunde.

Nach 7 Tagen Liegezeit zeigte das stark kupferhaltige 2-Componenten-Amalgam eine mäßige Reaktion, die beiden anderen Amalgame keine oder nur eine ungewisse Reaktion.

Die Composite-Materialien wiesen keine Toxizitätsabhängigkeit von der Liegezeit auf wie die Amalgame. Sie riefen eine leichte bis mäßige Gewebereaktion hervor.

Die bei dieser Studie erzielten Ergebnisse stimmten mit klinischen Erfahrungen überein. Die Autoren halten den Kaninchenmuskel-Implantationstest für eine geeignete Methode, die chemisch ausgelöste Toxizität fester Materialien zu prüfen.

2.2 Arbeiten, die Usage - Tests beinhalten:

47	}	Arbeiten siehe Literaturverzeichnis
87		
130		
140		
185		
205		

Untersuchte Arbeit:

ELEY

" The Fate of Amalgam Implanted in Soft Tissues -
An Experimental Study" (47)

Testart: In vivo - Usage-Test, Implantation

Zellkultur: -

Material+ Methoden: Konventionelles Amalgam, Implantation sub-
mandibular bei Meerschweinchen.
1. Komplette ausgehärtete Teile
2. Ausgehärtet, pulverisiert
Histologische Untersuchung, Lichtmikroskopie,
Elektronenmikroskopie

Aussagen über:

Toxizität: Nach histologischen Präparaten beschreibend

Korrelation: Klinischer Befund (Tätowierung)

Reprodu- Versuchsdurchführung: beschrieben
zierbarkeit: Versuchsauswertung: histologische Präparate
Versuchsdauer: bis ca. 2 Jahre

Testmate- Amalgam; Aristaloy
rialien:

Liegezeiten: 2 Wochen Liegezeit vor Sterilisation und Weiter-
verarbeitung zur Implantation

Statistik: keine Angaben

Zusammenfassung: (47)

Gewebereaktionen auf implantiertes Dental-Amalgam innerhalb weicher Gewebe unterscheidet sich in Abhängigkeit der Größe der Amalgampartikel.

Kleine Teilchen (Pulver) werden innerhalb von Makrophagen und Riesenzellen aktiv aufgenommen unter Verlust von Hg aus der Bindung und der Bildung von feinen Teilchen, die Silber und Schwefel enthalten, und, über das Gewebe weiter verbreitet, zur Bildung einer Tätowierung führen.

Größere Teilchen aus Amalgamfüllungen werden von einer fibrinösen Kapsel umschlossen, welche die Auflösung behindert und geringe Neigung zur "Tätowierungsbildung" zeigt.

Das erklärt wahrscheinlich den Umstand, daß diffuse Erscheinungsbilder einer Tätowierung sich seit dem Einsatz von Turbinenbohrern beim Ausbohren alter Amalgamfüllungen infolge hoher Zentrifugalkräfte häufen. Bei größeren Teilchen z.B. (Füllungsbruchstücke in Extraktionswunden) ist eine Tätowierungsbildung weniger wahrscheinlich.

Untersuchte Arbeit

MIMIOKITA, OKAMOTO, AMARI, TSUI, IMAMOTO

"Histological an Cytological Changes of Tissue Caused by
Inserted Dental Metallic Material" (87)

Testart: In vivo Usage-Test, Implantation Kanichen-
Wangenschleimhaut

Zellkultur: -

Material+ Ag-Sn-Amalgam, Alloy-Hg-Verhältnis 5:6,
Methoden: Verschiedene Probenalter 1, 3, 24 Stunden,
72 Kaninchen, 3 Gruppen, Proben submukosal
in der oberen buccogingivalen Grenze,
Implantationsdauer 5 bis 90 Tage

Aussagen über:

Toxizität: Graduierende Einstufung,

Korrelation: Keine Aussagen

Reprodu- Versuchsdurchführung: beschrieben
zierbarkeit: Versuchsauswertung: durchgeführt
Versuchsdauer: angegeben

Testmate- Lunagent - Alloy
rialien:

Liegezeiten: Versuche mit verschiedenen Liegezeiten

Statistik: Keine statistischen Analysen

Zusammenfassung: (87)

Es wurden histopathologische Untersuchungen durchgeführt von Bindegewebsveränderungen, die durch Amalgame verursacht wurden.

Über Beobachtungszeiträume von 5 Tagen bis 3 Monaten wurden Kaninchen 2 x 1 x 5 mm große Pellets submukosal implantiert. Bei den histologischen Untersuchungen ergaben sich folgende Befunde:

Liegezeit 1 Stunde:

- Um die Proben herum bildeten sich Bindegewebskapseln,
- Zwischen Proben und Bindegewebe zeigten sich Exsudatzellen,

Liegezeit 3 Stunden:

- Exsudatstellen vorhanden, aber graduelle Abnahme,
- Bindegewebe wird fibrinöser, Tendenz zur Kapselbildung,

Liegezeit 24 Stunden:

- Deutliche fibrinöse Umbildung des Bindegewebes,
- Zahlreiche Histiozyten.

Untersuchte Arbeit:

MJÖR, ERIKSEN, HAUGEN, SKODEDAL

"Biologic assessment of copper-containing amalgams" (130)

II. Teil siehe auch S. 78

Testart: In vivo Usage-Test
Implantationen subkutan bei Ratten

Zellkultur: -

Material+ Methoden: 10 mm lange Proben 1,5 mm Ø Implantation
nach HAUGEN und MJÖR.
Kupferamalgam, Silber-Amalgam (hochkupfer-
haltig), Referenzproben ZOE,
konventionelles Ag-Sn-Amalgam

Aussagen über:

Toxizität: Graduierend, beschreibend,
Histologische Präparate

Korrelation: Zu in vivo - Usage-Test
Pulpa-Test (130) Teil I

Reprodu- Versuchsdurchführung: beschrieben
zierbarkeit: Versuchsauswertung: Histologische Prä-
parate
Versuchsdauer: 1 bis 3 Monate

Testmate- Kupferamalgam, Neo Silbrin, 31% Cu, 67% Hg,
rialien: Hochkupferhaltiges Silber-Amalgam, 40% Ag,
30% Sn, 30% Cu
Zinkoxyd Eugenol
Konventionelles Ag Sn-Amalgam

Liegezeiten: Keine, sofortige Implantation

Statistik: Keine statistische Auswertung

Zusammenfassung:

(130)

Um das Kriechen zu reduzieren und marginale Frakturen bei Amalgamfüllungen zu vermeiden, wurden neue Legierungen mit höheren Kupferanteilen eingeführt. Füllungen mit diesen Materialien wurden in Kavitäten gelegt, die in Milchzähnen von Affen präpariert worden waren, oder sie wurden in Polyäthylenröhrchen placiert und bei Ratten subkutan implantiert. Als Bezugsmaterialien dienten konventionelle Silber-Zinn-Legierungen und Zinkoxyd-Eugenolzement. Trotz Einschränkungen infolge verschiedener Kavitätentiefen und der geringen Anzahl behandelter Tiere konnte gefolgert werden, daß Legierungen mit hohem Kupfergehalt mehr ernste Pulpaschäden verursachen als die übrigen untersuchten Materialien. Bei den Implantationsstudien wurden viele Proben mit hohem Kupfergehalt noch vor Abschluß des Untersuchungszeitraumes abgestoßen. Daraus wird geschlossen, daß diese Materialien bei tiefen Kavitäten die Verwendung einer nichttoxischen Unterfüllung erforderlich machen, obwohl das Legen der Unterfüllungen und die Isolierung der Kavität Probleme auftreten lassen, da sie häufig bei den Zähnen jüngerer Kinder verwendet werden.

Untersuchte Arbeit:

NASJLETI, CASTELLI, CAFFESE

"Effects of Amalgam Restaurations on the Periodontal
Membrane in Monkeys" (140)

Testart: In vivo-Usage-Test

Zellkultur: -

Material+ Amalgam;

Methoden: Zähne werden extrahiert und endodontisch behandelt,
Im mittleren Drittel der Wurzel werden distal und
mesial Kavitäten angebracht und mit Amalgam gefüllt
und wieder implantiert. Beobachtungszeit 7 Tage bis
6 Monate.

Aussagen über:

Toxizität: Gradierende Einstufung, histologische Präparate

Korrelation: Zu Pulpa-Tests (114)

Reprodu- Versuchsdurchführung: beschrieben

zierbarkeit: Versuchsauswertung: durchgeführt

Versuchsdauer: bis 180 Tage

Testmate- New Tru Alloy Alloy: Hg = 1:1

rialien: Handgestopft, nicht poliert

Liegezeiten: Keine, sofortige Reimplantation der Zähne

Statistik: Keine statistischen Analysen

Zusammenfassung: (140)

Der Gedanke der vorliegenden Arbeit war die Untersuchung der Reaktion von Amalgam auf das Periodont durch histologische Untersuchung der periodontalen Membran bei reimplantierten Zähnen mit Amalgamfüllung. Dazu wurde 8 Rhesusaffen der linke mittlere Schneidezahn extrahiert und endodontisch behandelt mit ZOE-Paste und Guttapercha-Point. Danach erfolgte die Kavitätenpräparation distal und mesial im mittleren Drittel der Wurzel und Amalgamfüllung im Alloy-Hg-Verhältnis 1:1. Die Füllungen wurden handgestopft und nicht poliert, die Zähne danach sofort reimplantiert. Jeder Zahn war nur ca. 1 Stunde außerhalb der Alveole. Die Beobachtungsdauer betrug 7 bis 180 Tage. Nach Tötung der Versuchstiere erfolgte die histologische Aufbereitung der Zähne mit angrenzendem Knochen und Bindegewebe.

Der Heilungsprozeß des Periodonts verlief reibungslos, das Gebiet der periodontalen Membran, welche an die Amalgamfüllungen angrenzte, reagierte unterschiedlich.

Das ausbalancierte biologische Substrat der Membran wurde durch das Amalgam gestört. Entzündliche Prozesse bis hin zur Kapselbildung traten auf, jedoch keine Nekrose.

Die Heilungsverzögerung gegenüber normal reimplantierten Zähnen betrug ca. 2 Wochen.

Die Reaktionen auf das Amalgam liefen in folgendem Schema ab:

1. Akute entzündliche Reaktion bis 7 Tage,
2. Chronischer Entzündungsprozeß mit Kapselbildung nach 30 Tagen,
3. Keine entzündliche Infiltration in der Kapsel oder im angrenzenden Gewebe nach 60 bis 180 Tagen - Versuchen.

Die Gingiva-Reaktion nach Kontakt mit Amalgam entspricht in etwa der eines chronisch-entzündlichen Prozesses als Reaktion auf Zahnstein. Es entsteht die Frage, ob die plaqueanlagernde Fähigkeit des Amalgams den Entzündungsprozeß bestimmt.

Abschließend kann gesagt werden, daß konventionelles Amalgam ein sicheres Restaurationsmaterial ist, das vom zahnumgebenden Bindegewebe gut toleriert wird.

Untersuchte Arbeit:

SCHMALZ

"Die biologische Prüfung von Füllungsmaterialien am
Göttinger Miniatur-Schwein - eine Pilot-Studie" (185)

Testart: In vivo Usage-Test
Zellkultur: -
Material+ Methoden: Silikatzement, Zinkoxyd-Eugenol mit Amalgam,
Konventionelles Amalgam
Zahnhalbsfüllungen unter Narkose, 4 bis 30 Tage
Verweildauer, Histologische Aufarbeitung der
Präparate

Aussagen über:

Toxizität: Beschreibend, gradierend,
Korrelation: Zu Ergebnissen bei Primaten und Menschen
Reprodu-
zierbarkeit: Versuchsdurchführung: beschrieben
Versuchsauswertung: Tabellen, histologische
Präparate,
Versuchsdauer: Bis 30 Tage Beobachtungszeit
Testmate- Silikatzement, Silicap, Vivadent; Zinkoxyd-Eugenol,
rialien: Mainland; Amalgam, Amalcap, Vivadent
Liegezeiten: Keine, da Usage-Test
Statistik: Statistische Analysen

Zusammenfassung: (185)

Die technischen Voraussetzungen für die Verwendung von Miniaturschweinen anstelle von Primaten im Rahmen einer standardisierten Testung von zahnärztlichen Füllungs-materialien auf Pulpaverträglichkeit sind als günstig anzusehen. Eine Übertragbarkeit der histologischen Ergebnisse auf den Menschen erscheint möglich.

Nach Applikation von Zinkoxyd-Eugenol zeigte sich eine mehrreihige entzündungszellfreie Odontoblastenschicht. Eine Zellschädigung durch Silikatzement zeichnete sich durch massive Leukozyten-Infiltration und extravasale Erythrozyten aus.

Die Reaktion auf Amalgam bei kurzer Liegezeit ist durch geringgradige Ausdünnung des Odontoblastensaumes und das Auftreten weniger neutrophiler Granulozyten gekennzeichnet. Bei längerer Liegezeit (30 Tage) zeigt sich beginnende Sekundär-Dentin-Bildung.

Die FDI-Auswertungskriterien, die auf Primaten und Menschen bezogen sind, sind auch auf die Präparate der Miniaturschweine anwendbar.

Untersuchte Arbeit:

TRIVEDI, TALIM

"The response of human gingiva to restorative materials" (205)

Testart: Usage-Test, klinischer Test am Menschen

Zellkultur: -

Material+ Methoden: Silber-Amalgam im Vergleich mit Silikatzement, Kunststoff und Progold als Füllungsmaterial in zu extrahierenden Prämolaren, Füllungsrän- der mit Gingivakontakt.

4 Gruppen:

1. Füllung poliert, Patient bürstet
2. " " , Patient bürstet nicht
3. " nicht poliert, Patient bürstet
4. Füllungsüberstand, Patient bürstet

Nach 60 Tagen Biopsien, histologisch aufgearbeitet

Aussagen über:

Toxizität: Histologische Gewebevergleiche, gradierend beschreibend

Korrelation: Korrelation zu 140

Testmaterialien: Silber-Amalgam, Solila silver alloy,
Silikatzement, Super Sytrex,
Kunststoff, Sevitron autopolymerizing filling mat.
Progold, Order Golden Cast Alloy,

Liegezeiten: keine, da Usage-Test

Statistik: Vergleichstabellen

Reproduzierbarkeit: Versuchsdurchführung: beschrieben
Versuchsauswertung: Biopsien histologisch untersucht
Versuchsdauer: 60 Tage Beobachtungszeit

Zusammenfassung: (205)

Untersuchung der an Füllungen angrenzenden Gingiva von
104 Prämolaren. Die Füllungen erfolgten mit Amalgam

Silikatzement

Kunststoff

Progold.

Die Testpersonen (alle unter 20 Jahre alt mit normalen
Zahnfleischverhältnissen) waren in 4 Gruppen (s.o.) aufgeteilt.
Makroskopisch konnten keine Veränderungen festgestellt werden.
Histologisch zeigten 67% aller Proben Entzündungen.

81,2% Silikatzement und Kunststoff, 62,5% Silberamalgam, keine
Progold.

Bei polierten Silber-Amalgamfüllungen und geputzten Zähnen
zeigte sich keine Reaktion.

Bei polierten Silber-Amalgamfüllungen und nicht geputzten Zähnen
war deutlicher Entzündungsanstieg festzustellen.

Auch bei allen anderen Proben waren weniger Reaktionen an
polierten Füllungen und geputzten Zähnen, aber starke Reaktionen
an polierten Füllungen, jedoch ungeputzten Zähnen zu beobachten.
Ergebnis der Tests: Silber-Amalgam verursacht weniger Entzün-
dungen als Silikatzement und Kunstharze.

Die gingivale Reaktion scheint auf

- chemische Verletzung,
- unpolierte Oberflächen,
- schlechten Randschluß,
- mangelhafte Mundhygiene

zurückzuführen sein.

Progold ist das Material erster Wahl, gefolgt von Silber-Amalgam.

3.0 Auswertung der Literaturaussagen

3.1 Toxizität

Widersprüchliche Aussagen über antibakterielle Wirkung von Amalgam und bzw. oder Teilen dieser Legierung veranlaßten NUNEZ et.al. (145, 146, 147) Test-Systeme zu entwickeln, um unter kontrollierten, reproduzierbaren Bedingungen den Effekt des Amalgams und seiner Bestandteile auf das in vitro-Wachstum von Streptococcus mutans zu erforschen. Die Verfasser stellten fest, daß die Wachstums-Reaktion in sensibler Abhängigkeit zu den unterschiedlichen Mengen des zugefügten Alloys oder Amalgams steht. Diese Methode eignet sich gut für vergleichende Untersuchungen (145).

3.1.1 Legierung/ Alloy

Im zweiten Teil der Arbeit (146) werden drei verschiedene Alloys und die drei entsprechenden Amalgame untersucht. Man findet nur kleine Differenzen in der Wachstumshemmung bei Streptococcus mutans mit Spherical Alloy und Fine cut Alloy, aber wesentlich geringere Wachstumshemmung bei Dispersions-Alloy. Die Verfasser führen diesen Umstand auf die chemische Zusammensetzung der Alloys bezüglich der Gesamtmengen von Ag und Sn bei gleichem Verhältnis von etwa 2:1 zurück. 1 + 3 sind "hochkupferhaltiges", 2 ist konventionelles Amalgam.

	1.) Spheraloy Kerr	2.) Fine cut Alloy (Caulk)	3.) Dispersalloy (J+J)
Ag	52	60	35
Sn	26	29	17
Cu	21	5	42
Zn	0,7	5	4
Pb	0,1	1	2
andere	0,2	-	-

Alle Angaben in %.

Die Reihenfolge nach Größe der Wachstumshehmung ist genau gleich:

Fine cut Alloy	Spheraloy	Dispersalloy
----------------	-----------	--------------

Das entspricht auch den Erfahrungen von KAWAHARA et.al.(80), die die biologische Aktivität der Metallionen mit der Stellung im Periodensystem korrelieren. Die Verfasser unterstreichen aber die Tatsache, daß die Alloys der Amalgame als nicht toxisch anzusehen sind (80, 207).

In Wachstumsinhibitions-Tests (WIT) mit Alloys verschiedener Amalgame C3H-Zellen waren bei allen Inkubationszeiten die Zellzahlen gleich denen der Testgruppe (69).

LEIRSKAR (107) mißt nur geringe Hg-Mengen im Medium ($17,7 - 19,6 \times 10^{-3}$ mg/ml nach 3 Tagen).

3.1.2 Quecksilber

Ausgehend von den bekannt toxischen Effekten des Quecksilbers (78, 79) - ZEMKE (224) benutzt Hg als negatives Referenzmaterial bei Toxizitäts-Analysen - stellte YAMAGAMI

(225) et.al. in cyto-chemischen Untersuchungsreihen fest, daß Hg in der Lage ist, die Membran von L 929 - Zellen in Ionenform oder als organische Verbindung zu durchdringen und sich im Ektoplasma anzulagern. Konzentrationen von 10^{-15} mol/l Hg und Silberionen führten zur Freisetzung von Histamin aus Mastzellen vom Ratten-Peritoneum (60) und können ebenso als Enzym-Inhibitoren wirken.

GOLDSCHMIDT et.al. (61) untersuchten den toxischen Effekt diverser Metallionen, u.a. auch Hg^{2+} auf HeLa-Zellen und menschliche gingivale Fibroblasten im ^{51}Cr -Release-Test und stellten bei einer Konzentration von 10^{-5} mol/l eine signifikant negative Beeinflussung der Protein-Synthese bei beiden Zellarten fest. 10^{-6} mol/l behinderten die Aktivität der Fibroblasten, nicht jedoch die der HeLa-Zellen.

NUNET et.al. (147) verglichen den Einfluß verschiedener Hg-Verhältnisse auf das Wachstum von Streptococcus mutans. Es ergaben sich nur geringe Unterschiede bei Dispersions Alloy und frischem Fine cut Alloy, die aber statistisch nicht signifikant sind. Auch KAWAHARA et.al. (79) experimentiert mit verschiedenen Hg-Anteilen im sphärischen Amalgam bei C3H-Mäuse-Fibroblasten. Bei Alloy-Hg-Anteilen von 5:4, 5:8, 5:10 konnte eine sichtbare Tendenz zunehmenden Wachstums-Hemm-Effektes mit steigendem Hg-Anteil festgestellt werden, obwohl auch hier statistisch eine Signifikanz nicht gefunden wurde.

3.1.3 Amalgame

Nachdem die Alloys für Amalgame als nicht cytotoxisch, Quecksilber dagegen als toxisch angesehen wird, soll eine Kombination zwischen einem nicht toxischen und einem toxischen Material, das Amalgam, untersucht werden.

Die kurzzeitig toxische Wirkung nach der Trituration und das allmähliche Nachlassen der Toxizität mit fortschreitender Amalgamierung untersuchten KAMAHARA et.al. (79) an einem Spherical Amalgam im Vergleich mit einem Fine cut Amalgam an C3H-Mäuse-Fibroblasten:

Spherical Amalgam zeigte eine intensive Cytotoxizität sofort nach der Trituration, diese nahm aber sehr schnell ab und war nach 2 Stunden nicht mehr nachweisbar.

Fine cut Amalgam hatte im Gegensatz dazu relativ dauerhafte Cytotoxische Effekte bis 24 Stunden nach der Trituration.

Ähnliche Ergebnisse erzielten NUNEZ et.al. (146) beim Vergleich der Wirkung 3 verschiedener Amalgame auf Streptococcus mutans: Dispersions Amalgam hemmt das Wachstum bei 2 h Probenalter mehr als es Fine cut Amalgam bzw. Spherical Amalgam vermögen; bei 24 h besteht kein wesentlicher Unterschied mehr, bei 72 h verhalten sich die Amalgame etwa gleich.

Vergleicht man dieses Ergebnis mit dem der Versuche mit Alloy - siehe 3.1.2 -, so fällt auf, daß hier eine andere Reihenfolge besteht.

LEIRSKAR (107) mißt die Amalgambestandteile im Medium und die Effekte dieser Metallionen auf menschlich-epitheliale Zellen NCTC 5244 und stellt fest, daß eine Menge von $10 \mu\text{g Zn}^{2+}/\text{l}$ die Zellzahl um 96% nach 24 h vermindert. Bei Kupfer-Amalgam findet man ähnliche Ergebnisse: $50 \mu\text{g Cu}^{2+}/\text{l}$ reduzieren die Zellzahl um 73%, während $10 \mu\text{g Cd}^{2+}/\text{l}$ sämtliche Zellen tötet.

GOLDSCHMIDT et.al. (61) untersuchten HeLa-Zellen und menschlich-gingivale Fibroblasten und fanden keine Unterschiede zwischen den Zellarten bezüglich des Verhaltens auf Metallionen. Die Zellen produzierten kein Protein mehr. $10^{-5} \text{mol/l Ag}^+$, Cu^+ , Zn^+ und Hg^{++} waren in der Lage, die Protein-Synthese von HeLa-Zellen signifikant zu beeinflussen, menschlich-gingivale Fibroblasten dagegen waren relativ unempfindlich bei $10^{-4} \text{mol/l Zn}^{++}$ in Bezug auf ^3H -Leucin-Aufnahme. $10^{-6} \text{mol/l Hg}^{++}$ behinderten die Aktivität der Fibroblasten, nicht jedoch der HeLa-Zellen.

Bei Wachstum-Inhibitions-Vergleichen von NCTC 2544 und L 929-Zellen in Gegenwart von Silber- und Kupfer-Amalgamen finden HELGELAND und LEIRSKAR (108) keine meßbaren Inhibitionen bei Silber-Amalgamen auf beide Zellarten. Lediglich auf der Oberfläche des Testmaterials konnte eine toxische Wirkung festgestellt werden. Kupfer-Amalgam zeigte erhebliche toxische Wirkung auf NCTC 2544 und L 929-Zellen: nach 24 h waren auf der Oberfläche keine Zellen mehr vorhanden.

LEIRSKAR (71) beobachtete den gleichen Effekt mit NCTC - 2544-Zellen durch Messung des Glucose-Verbrauchs und Bestimmung der Lactat-Bildung. KELLNER und KERESZTESI (85) wählten eine photographische Darstellungsmethode, um zu zeigen, daß Hühnerembryomesenchym-Zellen durch Silber-Amalgam unbeeinträchtigt blieben, wohingegen Kupfer-Amalgam eine vollständige Wachstums-Hemmung bewirkte.

SCHMALZ (183) untersuchte Amalgame im Hämolysetest und befindet alle Amalgame als untoxisch. Diese Testmethode ist für Amalgame zu unempfindlich (89, 183).

Im Diffusionstest zeigen alle Amalgame eine initiale Toxizität. Beim Vergleich der bacteriziden Eigenschaft mit der Toxizität konnte die gleiche Reihenfolge festgestellt werden (146, 183). Das Diffusionstestsystem reagiert äußerst empfindlich auf Metall-Ionen.

Im Wachstumsinhibitionstest zeigen sich alle geprüften Amalgame als nicht toxisch. Die geringe toxische Wirkung bei kurzen Liegezeiten entspricht den Angaben der Literatur.

Bei Implantationstests von frischem Amalgam im bucco-gingivalen Gewebe von Kaninchen beobachtete man starke initiale Reaktionen auf das Gewebe (87). Diese Erfahrung machte auch KAWAHARA (80), und er führte diese Reaktion auf in der Anfangsphase der Trituration freiwerdendes Quecksilber zurück, das ionisiert und cytotoxische Aktionen im Gewebe herbeiführt. Diese Reaktion hält 1 bis 2 Stunden an.

Nach längeren Implantationszeiten erscheinen nur noch milde Gewebeantworten (126), die Proben kapseln sich bindegewebig ein (87)

ELLENDER (45) vergleicht bei Implantationen in Ratten Amalgam mit Porzellan als Kontrolle und zeigt bei Amalgam verlangsamte Bildung von Granulationsgewebe. Auch hier erfolgt nach anfänglicher starker Reaktion mit interstitiellem Oedem über Entzündungszellen und verzögerter Fibroblasten-Entwicklung Kollagenbildung und Abkapselung (46). Amalgam-Implantationen im Schienbein von Ratten im Vergleich zum chirurgisch behandelten Kontroll-Schienbein werden über einen Untersuchungszeitraum von 12 Wochen beobachtet (110). LIGGET (110) bezeichnet beide untersuchten Amalgame als biologisch gut verträglich.

ELEY (47) implantiert ausgehärtetes Amalgam in Pulverform oder massiven Stückchen und beschreibt bei Pulver nach anfänglicher Entzündung Makrophagen-Bildung um die Pulverpartikel im Sinne einer Tätowierungsbildung; größere Partikel werden fibrös umkapselt.

Die gleichen Reaktionsmuster zeigte NAGEM FILHO et.al. (137) beim Vergleich von Fine cut, Spherical und Dispersions Amalgam, wobei das Dispersions Amalgam vor Spherical und Fine cut die geringsten Reaktionen aufwies.

SCHMALZ (184) wertet Amalgam-Implantate in Kaninchenmuskulatur makroskopisch und mikroskopisch aus und findet auch nach anfänglichen starken Reaktionen schnelles Nachlassen mit zunehmender Liegezeit und diskutiert die Korrelation zu Untersuchungen von MJÖR (130) an Affenzähnen:

Mehrere Amalgame wurden in Klasse-V-Kavitäten mit verschiedenen Tiefen verglichen und einer ZOE-Füllung gegenübergestellt. Die stark toxische Wirkung von Kupfer-Amalgam und

die abgestuften Gewebereaktionen von Ag-Sn-Amalgam und Ag-Sn-Cu-Amalgam decken sich mit den Beobachtungen von SWERDLOW (180).

Mit den Pulpa-Tests am Göttinger Miniaturschwein eröffnete SCHMALZ (185) die Möglichkeit, ein alternatives Versuchstier anstatt Primaten einzusetzen. Die Versuche waren erfolgversprechend und zeigten die vorher beschriebenen Reaktionsmuster.

3.1.4 Ursachen

Bei fehlender toxischer Wirkung der Alloys der Amalgame (80, 207) oder nur geringer Wachstums-Inhibition auf Bakterienkulturen, abgestuft nach AgSn-Gehalt (145 bis 147), und der Erkenntnis, daß frisch trituriertes Amalgam starke initiale Reaktion auf Zellkulturen und Gewebe hat (107, 79, 71, 108, 137, 130, 145, 146, 184, 46) kann nicht unbedingt geschlossen werden, daß Quecksilber der ursächliche Faktor ist. Obwohl Quecksilber mit seiner toxischen Wirkung in den Vordergrund gestellt wird (61, 78, 79) und bei Versuchen auch negatives Referenzmaterial benutzt wird (227), stellen NUNEZ, SCHMALZ et.al (145, 146, 147) fest, daß z.B. Hg-Anteil-Änderungen meßbare, aber keine signifikanten Unterschiede in der Reaktion hervorrufen.

Dagegen haben die freiwerdenden Metallionen einen wesentlichen intensiveren toxischen Effekt auf Zellen und Gewebe, vor allen Dingen Zn^{++} , Cu^{++} , Cd^{+} (107). Das erklärt auch den wesentlich stärkeren toxischen Effekt des Kupfer-Amalgams und der stark zinkhaltigen Amalgame im Vergleich zu zinkfreien Amalgamen oder non-Gamma-2-Amalgamen mit Kupfer-Silber-Eutetikum.

3.2 Korrelation

3.2.1 Tests mit verschiedenen Zellarten

Wenn in den untersuchten Tests Korrelationsaussagen getroffen wurden, waren sie immer speziell auf das jeweilige Thema abgestimmt.

Bezüglich der Korrelation von in vivo und in vitro Tests interessiert zunächst einmal die Frage, mit welchen Zelltypen gearbeitet werden kann.

Man war der Meinung, daß sich heteroploide Zellen für diese Experimente nicht eignen und statt dessen nur diploide Zellen, vorzugsweise Fibroblasten bzw. Pulpa-Fibroblasten benutzt werden sollten, wenn dentale Metarialien getestet werden. SPANGBERG (173-178) konnte jedoch in Versuchsreihen mit verschiedenen Zellstämmen und Zellarten feststellen, daß nennenswerte Reaktionsabweichungen nicht bestanden.

Gleiche Beobachtungen machten auch andere Autoren:

LEIRSKAR und HELGELAND (108) testeten verschiedene Materialien auf menschlich-epithelialen Zellen NCTC 2544 und Mäuse-Fibroblasten L 929 und finden gute Korrelation zwischen den beiden Zellarten.

GOLDSCHMIDT et.al. (61) untersuchten den Metallioneneffekt auf HeLa-Zellen und menschliche gingivale Fibroblasten. Unterschiede zwischen den Reaktionen dieser Zellarten existieren nicht.

SCHMALZ (183) vergleicht menschliche diploide Zellen mit heteroploiden Zellen von Mäusen. Er stellt fest, daß menschliche diploide Zellen langsamer wachsen als die heteroploiden Zellen der Mäuse.

Dieses langsamere Wachstum zwingt zur Verlängerung der Kultivierungsintervalle. Die auch von SPANGBERG (173) beobachtete Tatsache, daß sich menschliche Fibroblasten, speziell Pulpafibroblasten in der Kultur sehr schnell dedifferenzieren, aber der Grad der Dedifferenzierung unbekannt bleibt, kann die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse beeinflussen.

Die enge Korrelation im WIT bei Verwendung verschiedener Zellarten trotz dieser Probleme führt andererseits zu dem Schluß, daß zur Testung der unspezifischen Toxizität von Amalgamen auf menschliche diploide Zellen verzichtet werden kann (173, 183).

3.2.2 Andere Zelltests

Die von NUNEZ et.al. (146) herausgestellten Ergebnisse mit *Streptococcus mutans* im WIT korrelierten deshalb nicht mit den Ergebnissen von KAWAHARA (79) mit C3H-Mäuse-Fibroblasten, da mit verschiedenen Alloy-Hg-Verhältnissen gearbeitet wurde. Es ist deshalb anzustreben, die zu testenden Materialien nur nach Angaben des Herstellers zu mischen.

Die hohen Toxizitätswerte im WIT auf menschliche epitheliale Zellen NCTC 2544 durch Zn^{2+} (107) stimmen mit den Erfahrungen von HELGELAND (71) überein. Auch GOLDSCHMIDT (61) berichtet über vermindertes Zellwachstum von menschlichen epithelialen Zellen bei Kontakt mit Konzentrationen von 10^{-4} bis 10^{-5} mol Metallionen aus Amalgamen.

Die bis hier besprochenen Untersuchungen beziehen sich auf Effekte der Materialien auf in vitro Systeme, die immer als geschlossene Systeme ohne Regelmechanismen angesehen werden müssen.

3.2.3 In vivo Tests und klinische Erprobung

Bei in vivo Screening-Tests jedoch beurteilt man Gewebereaktionen, die durch Faktoren verschiedenster Art ausgelöst werden. Die Toxizität eines Materials ist nur einer dieser Faktoren. Aber viele andere, wie Oberflächenbeschaffenheit des Materials, z.B. Glätte, Flüssigkeitsgehalt und Spalten, experimentelle Traumen, unkontrollierte Infektionen, nicht abgrenzbare Reaktionen der Versuchstiere beeinflussen das Ergebnis dieser Tests. Dazu kommt noch die Tatsache, daß ein in vivo System ein offenes System darstellt, in dem toxische Substanzen je nach Abwehrlage des Wirtskörpers schnell oder langsam abtransportiert werden und somit messende Beurteilungen nicht gut möglich sind. Man beschränkt sich deshalb auf beschreibende und vergleichende Beurteilungen der klinischen und histologischen Beobachtungen.

Verzichten kann man jedoch weder auf in vivo Tests noch auf klinische Gebrauchstests, da allein diese Tests in der Beurteilung von dentalen Materialien sicher ein abschließendes Urteil ermöglichen. Das gilt speziell für solche Materialien, die bei hervorragenden physikalisch-chemischen Eigenschaften und geringen initialen toxischen Effekten bei Screening-Tests durchfallen, bei denen aber durch Abwägung der therapeutischen Vorteile mit Hilfe der klinischen Gebrauchstests den Patienten unter gewissen Vorsichtsmaßnahmen wertvolle Stoffe nicht vorenthalten werden.

So kann man nicht wegen des relativ hohen toxischen Effekts des Quecksilbers in Screening-Tests und geringer initialer Toxizität von Amalgamen bei kurzen Liegezeiten in Usage-Tests auf dieses bis heute millionenfach verwandte, bewährte Material verzichten und empfiehlt daher zum Schutz gegen die eventuellen negativen Effekte Unterfüllungen in den Kavitäten und Politur der Oberfläche.

Man ist deshalb bestrebt, geeignete Tests zu finden.

Über gute Korrelation und Implantationstests zu Pulpa-Reaktionen berichtet MJÖR (130) bei Versuchen mit Implantaten bei Ratten und Pulpareaktionen bei Affen. Dagegen findet er nur mäßige Korrelation zwischen den Ergebnissen von Screening-Tests und histologischen Pulpauntersuchungen (131).

SCHMALZ (184) untersucht ein neues γ_2 -freies Amalgam und weist beim Implantationstest auf gute Korrelation aus Usage-Tests bei Affen hin (130).

Die besonderen Schwierigkeiten bei Versuchen an Primaten veranlaßten SCHMALZ (185) zu Experimenten mit Pulpauntersuchungen am Göttinger Miniaturschwein. Die Ergebnisse sind erfolgversprechend und die Korrelationen zu Reaktionen beim Menschen scheinen möglich.

3.3 Reproduzierbarkeit

3.3.1 Beschreibung der Versuchsdurchführung

Im allgemeinen wurde bei allen untersuchten Arbeiten die Versuchsdurchführung beschrieben. Allerdings ist die Reproduzierbarkeit nicht immer gegeben, da verschiedene Faktoren der Versuchsbedingungen nicht immer eingehalten werden können, da die Beschreibung nicht in allen Fällen in allen Einzelheiten vollständig ist.

3.3.2 Versuchsauswertung

Auch z.B. durch individuelle Interpretationsfehler bei graduierenden Messungen treten in den Ergebnissen Differenzen auf. Die Tatsache der Durchführung der Untersuchung in verschiedenen Labors und durch verschiedene Personen lassen Diskrepanzen in der Auswertung entstehen.

Im allgemeinen liefert der WIT bei der Reproduzierbarkeit bessere Ergebnisse, da die Messungen auch im gleichen Labor mit unterschiedlichem Personal identisch sind, wohingegen bei Diffusionstests nur bei absolut gleichen Versuchsbedingungen keine Differenzen auftreten.

Durch die Art der Auswertung ist dem WIT der Vorzug zu geben, da er messend erfolgt, während die Bewertung im Diffusionstest nur gradierend durchgeführt wird.

3.4 Testmaterialien

Durchweg wurden verschiedene Amalgame mit unterschiedlichen Alloy-Hg-Verhältnissen verwandt. Obwohl man daraus schließen müßte, daß sich daraus nicht vergleichbare Versuchsergebnisse ergeben könnten, hat sich doch herausgestellt, daß die Toxizität nicht signifikant abhängig ist vom Alloy-Hg-verhältnis. (147)

Konkrete Angaben über Triturationszeiten wurden nur in einigen Fällen gemacht. Hinweise zur Toxizität der Testmaterialien durch den Hersteller oder auch nur Hinweise auf die exakte Zusammensetzung wurden in keinem Fall gemacht. Mischungsverhältnisangaben fehlen bei Amalgamen meist, es sei denn, sie liegen in Kapseln vor.

3.5 Einfluß der Härtung und Lagerzeit Problematik der Anfertigung von Prüfkörpern

Die unterschiedliche Zeitspanne zwischen der Trituration und der Applikation bzw. Implantation der Testamalgame stellte einen bedeutenden Einfluß auf die Toxizität dar. Auch hier ergab sich eine Beeinträchtigung der Standardisierung des Testmaterials (78,79,80,85,155,176,207).

Nicht bei allen untersuchten Arbeiten wurden diese Liegezeiten angegeben (107,108,185,205). Bei anderen war der Hinweis auf die Liegezeit zu ungenau, z.B. "sofort" (79, 110, 130, 140).

Bei standardisierten Versuchen ist aber diese Angabe unumgänglich, da der nicht unerhebliche Einfluß bei kurzen Liegezeiten einen starken Einfluß auf die Toxizität hat.

3.6 Statistik

3.6.1 Statistische Vergleiche

Eine quantitative Bewertung der Ergebnisse war nicht bei allen Versuchen möglich. SCHMALZ (185) führte nur eine Pilotstudie an drei Miniaturschweinen durch. Durch die Eigenart der Experimente bei Implantationen und Pulpa-reaktionstests waren bei einigen Autoren nur graduierende, beschreibende Vergleiche möglich (46, 87, 110, 130, 137, 140, 205). Eine quantitative Bewertung durch Tabellen und Graphiken erfolgte beim größten Teil der untersuchten Arbeiten (61, 71, 79, 85, 107, 108, 183, 184, 227).

3.6.2 Statistische Analysen und Signifikanztests

Bei nur wenigen Arbeiten wurden statistische Analysen und Signifikanztests durchgeführt (71, 79, 108, 146, 147, 183, 184, 227).

4.0 Vergleiche mit Standardisierungsvorschlägen

4.1 Screeningstests

4.1.1. In vitro Screening-Tests

Der von SCHMALZ (183) beschriebene WIT, der gut reproduzierbare Ergebnisse liefert und alle Anforderungen an ein Standardtestverfahren erfüllt, wird in allen Standardisierungsvorschlägen nicht erwähnt. Der Agar-Overlay-Diffusionstest wird dagegen bei ADA und FDI gefordert, während SCHMALZ (183) diesen Test nur bei zentraler Durchführung empfiehlt.

ZEMKE (227) benutzt statt des Agar-Overlay Methylzellulose. Im Gegensatz zum Agar-Overlay liegt der Testkörper nicht auf dem Agar auf, sondern sinkt durch die Methylzellulose und berührt den Zellrasen direkt.

Der von GOLDSCHMIDT (61) angegebene ⁵¹Cr-Release-Test wird nur vom FDI als eine Möglichkeit erwähnt. Nachteilig wirkt sich die komplizierte Handhabung der Radionuklide aus.

4.1.2 In vivo-Screeningtests

Der vom FDI vorgeschlagene subkutane Implantationstest wurde lediglich von MJÖR et.al. (130) durchgeführt.

Die Screening-Tests, die durch die anderen Autoren durchgeführt wurden, erstreckten sich auf Implantationen von Amalgamen in Rückenmuskulatur von Kaninchen (184), Bindegewebe (137), Schulterblätter (46) und Schienbein (110) von Ratten. Der von ADA, BSI, FDI vorgeschlagene Schleimhauttest wurde einzig von KIMIOKITA e.al. (87) an Kaninchen durchgeführt.

4.2 Usage-Test

Die Pulpa-Irritationstests wurden von allen Institutionen empfohlen. Drei der untersuchten Arbeiten beeinhalteten diesen Test (130, 140, 185).

4.3 Klinische Erprobung

Die einzige klinische Erprobung an aus orthodontischen Gründen zu ziehenden Zähnen zur Untersuchung der Reaktion der menschlichen Gingiva machte TRIVEDI (205)

V Zusammenfassung

Amalgam als Füllungsmaterial wird im Prämolaren- und Molarenbereich allgemein anerkannt und vorwiegend benutzt. Obwohl die schädliche Wirkung von Quecksilberverbindungen im allgemeinen unbestritten ist, ist die Wirkung auf den Gesamtorganismus durch Amalgamfüllungen so gering, daß mit Schädigungen des Gesamtorganismus nicht gerechnet werden kann, da die gesetzten, allgemein anerkannten Grenzwerte bei weitem nicht erreicht werden können.

Die örtlichen geringen Wirkungen auf die Zahnhartsubstanz und Stützgewebe, wie auch auf die Pulpa, sind bekannt und können durch entsprechende Behandlungsmaßnahmen (Unterfüllung, Politur) zum größten Teil vermieden werden.

Die Forderung nach Vergleichbarkeit der biologischen Einflüsse von dentalen Materialien erfordert entsprechend eine Standardisierung der Testmethoden, um die sich verschiedene Institutionen in letzter Zeit weltweit bemühen. Von den einzelnen Institutionen werden teilweise voneinander differierende Testmethoden vorgeschlagen.

Diese wurden beschrieben und miteinander verglichen.

Die vorliegenden Arbeiten wurden daraufhin untersucht, inwieweit die verwandten Testmethoden reproduzierbar waren, ob statistische oder rein qualitative Angaben gemacht wurden, ob die Versuchsdurchführung in allen Details beschrieben wurde, ob die Ergebnisse übertragbar waren auf die klinische Anwendung, ob Hinweise auf die Zusammensetzung des Testmaterials vorlagen und ob Hinweise auf Liegezeiten gemacht wurden.

Die Bewertung der Aussagen über toxische Effekte ergaben, daß bei frisch applizierten Amalgamen die Anfangstoxizität durch den dann rasch fortschreitenden Amalgamierungsvorgang auf unbedeutende Werte absank. Die meisten untersuchten neueren Amalgamtypen können nach erfolgter Amalgamierung als biologisch inert betrachtet werden.

Die Korrelationsuntersuchungen ergeben, daß die verschiedenen Zellarten auf die Amalgame in gleicher Weise reagierten.

Bedingt durch rasche Dedifferenzierung der in Dauerkultur gehaltenen Zellen, die ihre organspezifischen Eigenschaften schnell ablegen, ist es nicht erforderlich, speziell Gingiva-Fibroblasten oder Pulpa-Fibroblasten zu verwenden.

Der grundlegende Unterschied zwischen geschlossenen in vitro- und offenen in vivo-Systemen (Einflüsse durch Transportmechanismen des Blutes und der Lymphe etc.) bewirkt, daß die Ergebnisse der Untersuchungen nicht gut übereinstimmen können. Um schwerwiegende toxische Effekte, z.B. einzelner Bestandteile der Testmaterialien, durch preiswerte Testmethoden sofort zu eliminieren, soll auf die Anwendung von in vitro Screening-Tests nicht verzichtet werden.

Bei parallel laufenden in vitro Screening-Tests und klinischen Erprobungen können aber auch solche Materialien im Nachhinein ihre therapeutischen Vorteile herausstellen, die wegen ihrer initialen Toxizität vorher in vitro-Tests eliminiert wurden.

Nur in wenigen Arbeiten waren eingehende statistische Analysen enthalten, da offenbar die Eigenart der meist qualitativen Ergebnisse eine statistische Beurteilung nicht zuließen.

Trotz des Vorhandenseins einer Beschreibung der Versuchsdurchführung in fast allen Fällen, ist der Versuch oft nur bedingt reproduzierbar.

Am vorteilhaftesten läßt der Wachstumsinhibitorstest eine Reproduktion zu.

Die Zusammensetzung der Testmaterialien ist meist Geheimnis der Hersteller und somit nicht bekannt.

Obwohl die Liegezeit einen bedeutenden Einfluß auf das Testergebnis hat, wurden in den meisten Fällen keine exakten Angaben gefunden.

Auf Grund der Vergleiche vorliegender Tests mit Standardisierungsvorschlägen sind die meisten Autoren der Ansicht, daß ein komplettes Prüfprogramm drei Teststufen beeinhaltten sollte:

1. Screening-Tests
2. Anwendungstests
3. Klinische Erprobung.

Prioritäten können hier nicht angegeben werden, da jede Testart für sich allein wissenswerte Aussagen macht, ohne die die Ergebnisse der anderen Tests nicht vollständig interpretiert werden können.

Summary

Dental amalgam as restorative materials for premolares and molares widely accepted and dominantly used.

Thus the toxic effect of mercury and mercury compounds is generally undoubted, the effect of amalgam restorations on the organism in total is such little, that reaction of the organism may not be expected, as the generally accepted marginal limits will not be reached or even far undergone.

The locally minor reactions of the enamel, the dentine, the gingiva and the periodont, as well as of the pulp are well known and be mainly avoided by use of the "lege artis" treatments. (lining, polish)

The postulation of a comparability of the biological influences of dental materials requires an standardization of test methods, which different institutions try to achieve presently.

The institutions propose partially different test methods. These were shown and compared to each other.

The studies available were evaluated in how far the used test methods were reproducible, whether statistic or only qualitative informations were given, whether the test methods were described in all their details, whether the results were transducible on clinical practice, whether informations on the content of the test materials were available and whether informations on setting time were given.

Evaluating the results of toxic effects showed: the initial toxicity of freshly applied amalgams diminished to unimportant values during the quickly progressing amalgamation.

The majority of the evaluated modern amalgams may be, after completion of amalgamation, regarded as biologically inert.

Studies on correlation show, that different cell-types react on amalgams in the same manner.

Caused by the quick dedifferentiation of the in permanent culture kept cells, which rapidly loose their organ-specific-quality, use of the special gingiva-fibroblasts or pulpa-fibroblasts is not necessary.

The basic difference between closed in vitro and open in vivo systems (influences because of transport mechanism of blood and lymphes etc.) caused the result of the evaluations not to agree.

To eliminate grave toxic effects, for example, of single components of the test materials, by acceptable test methods, in vitro screening tests should not be deleted.

Paralelly performed in vitro screening tests and clinical tests may even show the therapeutic advantages of materials, already eliminated because of their initial toxicity in earlier in vitro tests.

Only few studies included statistic analyses, as, obviously, evaluation.

Although a description of the test-method was almost in any case available, reproducability was not always granted.

Growth inhibition test is most advantageously for reproduction. The contents of the test material is often - secret of the producer - not known.

Although the setting time is of an important influence on the test result, there were mostly no exact informations given.

Because of comparison of available tests and standardization proposals most of the autors postulate a three-step test program:

- I screening test
- II usage test
- III clinical use.

Priorities can not be made here as every single test method offers results worth while knowing, and necessary for the complete interpretation of other test results.

VI Literaturverzeichnis

- 1) AMERICAN DENTAL ASSOCIATION: Recommended standard practices for biological evaluation of dental materials. - J.Amer.dent.Ass. 84, 382-387 (1972)
- 2) AMERICAN DENTAL ASSOCIATION: Recommended standard practices for biological evaluation of dental materials. - J.Amer.dent.Ass. 84, 382 (1972)
- 3) AFSETH, J., ROLLA, G., Minimum concentration of Cu or Zn causing reduced acid formation in plaque. CED 81, Nr. 54, Abstract
- 4) ALLAN, D.N.: The durability of conservative Restorations. - British Dent.Journal 126, Feb. 18., 1969, 172-177
- 5) ATTRAMADAL, A., SVATUM, B.: Bacteriostatic Effects of Tin in Vitro and in Vivo, CED 81, Abstract 56
- 6) ATTARDI, D.G.: Submaxillary gland of mouse: effects of fraction on tissues of mesodermal origin in vitro. Science, 156: 1307-1309, 1967, Abstract SB 89
- 7) AUTIAN, J.: General toxicity and screening tests for dental materials. Int.dent.J. 24, 235-250 (1974)
- 8) AUTIAN, J.: The use of rabbit implants and tissue culture test for evaluation of dental materials. Int. dent. J. 20, 481-490 (1970)
- 9) AUTIAN, J. and HAMMER, J.E.: A toxicity profile for calcium aluminate. J.dent.Res. 51(3): 880 (1972)
- 10) AVERY, J.K., HEYS, D.R., COX, C.F., HEYS, J.R., PROBST, R.: Pulpal Evaluation of Copper Amalgam Compounds on lined and unlined Cavities, IADR Abstracts 77, 285
- 11) BABENDERERDE, E., HELD, M., UNTERSPPANN, S.: Untersuchungen zur Diffusion des Quecksilbers aus Silber-Zinn-Amalgam-Füllungen mittels Hg.²⁰³. Dt.Stomat. 20, 343 (1970)
- 12) BANKS, K., SONI, N.: APF Effects on Dentin and Pulp under Amalgam restorations. Program and Abstract of paper, Nr. 776, S. 503
- 13) BARBER, T., REISBICH, M.H.: Amalgam: past, present and future, JADA, Vol. 86, April (1973) 863-869
- 14) BARAN, G., FARBER, P.A.: Nickel Toxicity I. Tissue response of Guinea Pigs to Alloy Implants. - Program and Abstracts of papers 498, S. 434
- 15) BATTISTONE, G.C., SAMMONS, D.W., MILLER, R.A.: Mercury excretion in military dental personell. Oral surg. 35, 47-52, 1973, zit. bei NIXON

- 16) BAUER, E.: Verfärbungen der Mundschleimhaut, ZWR 81, (1972), Nr. 1, 11-17
- 17) BAUME, L.J., FIORE-DONNO, G., HOLZ, J.: Biological pulp testing of restorative materials, Br.Dent.J. (1971), 131, 9-16
- 18) BLOCH, P., SHAPIRO, I.M.: An X-Ray Fluorescence Technique to measure the mercury burden of dentists in Situ. Program a. Abstract of Papers 1196
- 19) BÖCKER, F.W., MAXKORS, R.: Untersuchungen über den Quecksilberdampfgehalt in der Luft bei der Verarbeitung von Amalgamen. Dtsch. Zahnärztebl. 19, 127 (1965)
- 20) BRÄNNSTRÖM, M.: Reaction of the pulp to amalgam fillings. Odont. Revy (1963) 14, 244-253
- 21) BRÄNNSTRÖM, M., ISACSSON, G., JOHNSON, G.: The effects of calcium hydroxide and fluorides on human dentine. Acta Odontol Scand. 1976, 34, 59-67
- 22) BRAU, J.L.: Vom Haschisch zum LSD, Geschichte der Droge, Frankfurt/M. 1969, Insel-Verlag, S, 229
- 23) BROWN, St.A., MERRIT, K.: Fretting corrosion in saline and serum. Journal of Biomedical Materials Research Vol 15, 479-488 (1981)
- 24) BRUNE, D., HENSTEN-PETTERSEN, A., BELTESBREKKE, H.: Exposure to mercury and silver during removal of amalgam restorations.- Scand.Dent.Res. 1980: 88: 460-463
- 25) BSI, British Standards Institution 2 Park Street London, W1A 2 BS - Technical Committee DNS/8, Biological testing of dental materials, Document 78/ 65737
- 26) British Standard Institution; Methods of Biological assessment of dental materials. Verfahren zur biologischen Beurteilung von Dentalstoffen. BS 5828: 1980
- 27) BÜCHS, H.: Kariesprophylaxe zwischen Hoffnung und Realität. Daten des Mundhygienemarktes und der Gebißgesundheit. - Vortrag anlässlich IME Symposium im November 1980 in München
- 28) CAHOON, J.R., HOLTE, R.N.: Corrosion fatigue of surgical stainless steel in synthetic physiological solution, Journal of Biomedical Materials Research Vol.15, 137-145 (1981)
- 29) CAPILOUTO, E., COGE, R., LEMONS, J.: Effects of Amalgam Corrosion Products upon Human Cells in Culture - IADR Abstracts 390, S. 408, Prog-am and Abstracts of papers
- 30) CASTAGNOLA, L., WIRZ, J.: Quecksilberverdampfung bei der Amalgamverarbeitung, insbesondere beim Verbrauch vordosierter Kapseln, Quintess. zahnärztl.Lit.25 4956 (1974)
- 31) CATSAKIS, L.H., SULICA, V.I., A: Allergie to silver amalgams (Fallbeschreibung) - Oral Surg Sept. 1978, Vol. 46, Nr. 3, 371-375
- 32) COX, R.P.: Hormonal stimulation of Zinc uptake in mammalian cell cultures.-Mol.Pharmacol.4: 510-521, 1968, Abstract Salem Bibliography 76

- 33) CRAIG, R.G.: Restorative dental materials Chapter 17, Tissue interface with dental materials, 438-457, The C.V. Mosby Company
- 34) COOLEY, R.: Prevention of mercury vapor contamination from amalgam strap - Quintessenz Int. 10(5): 71-75, 1979
- 35) DARWELL, B.W.: The development of an artificial saliva for in vitro amalgam corrosion studies, J. of Oral Rehabilitation 1978, Vol. 5, 41-49
- 36) DIN 13904, 8.75, Deutsche Norm, Normenausschuß Dental im DIN, Deutsches Institut für Normung, e.V. - Silberamalgamlegierungen-
- 37) DIN 13904, 11.81, Deutsche Norm, Normenausschuß Dental im DIN, Deutsches Institut für Normung e.V., -Silberamalgamlegierungen-
- 38) DIN 13930, Entwurf, Deutsche Norm, Normenausschuß Dental im DIN, Deutsches Institut für Normung, e.V., Zahnheilkunde, Biologische Prüfung von Dentalwerkstoffen-
- 39) DIXON, M., RICKERT, M.S.: Tissue tolerance for foreign materials - Journ. A.D.A. American dent. Ass., August 1933, 1458-1472
- 40) DJERASSI, E., BEROVA, N., The possibilities of allergic reactions from silver Amalgam restorations, Int. dent. J. 19, 418-488, 1969, zit. bei D.F. JONES
- 41) EAMES, W.B., GASPAR, J.D., MOHLER, H.C.: The mercury enigma in dentistry - JADA Vol. 92, June 1976, 1199
- 42) EICHNER, K.: Zahnärztliche Werkstoffe und ihre Verarbeitung, 3. Aufl. A.Hüthing-Verlag, Heidelberg 1974, ISBN 3-7785-0296-4
- 43) EICK, J.D., CULLITON, C.R., NATIELLA, J.R.: Biological testing of crown and Bridge Alloys - IADR Abstract 1976, 113
- 44) EL-BAHLOUL, A.N., EL-BASSYOUNI: Screening of certain additives for corrosion inhibition of dental amalgam - Egyptian Dental Journal, Vol. 25, Nr. 3, July 1979, 247-256
- 45) ELLENDER, G.: In vivo studies of Corrosions Products of Dental Amalgam Implants, - J. Dent. Res. Vol. 54, Nr. 3, Abstract 21, 648
- 46) ELLENDER, G., HAM, K.N., HARCOURT, J.K. A: Toxic effects of dental amalgam implants, Optical histological and histochemical observations. Australian Dental Journal Okt. 1978, V. 23, Nr. 5, 395-399
- 47) ELEY, B.M.: The fate of amalgam implanted in Soft tissues- an experimental study - J.Dent.Res. 58(3):1146-1152(März 1979)
- 48) ELEY, B.M., GARETT, J.R., HARRISON, J.D.: Analytical ultrastructural studies on implanted dental amalgam in guinea pigs - Histochem.J. 8, 647, (1976)

- 49) ETTLIN, E.: Die Korrosionserscheinungen der verschiedenen Metalle im Mund. Messungen, Feststellungen und die Bedeutung für die Fokalinfection-
Diss. Univ. Düsseldorf 1962
- 50) FDI, FEDERATION DENTAIRE INTERNATIONALE: Recommended Standard Practices for Biological Evaluation of Dental Materials - Document 198. Commission on Dental Materials, Instruments, Equipment and Therapeutics, WG 5, CHAIRMAN, K., LANGE LAND, Okt. 1979
- 51) FERETTI, G.A.: Ultrastructural changes of *S. mutans* exposed to fluoride and tin.-
Program and Abstract of papers, Nr. 774, 503
- 52) FISCHER, H.: Quantitative Messungen zur Quecksilberdampf-abgabe bei Verarbeitung von Silberamalgam in der zahnärztlichen Praxis. -
Diss. med. Fak. Düsseldorf, 1967
- 53) FORTMANN, J.: Kommt den Amalgamfüllungen der Zähne eine gegen Quecksilber sensibilisierende Wirkung auf die Haut zu?
Diss. Univ. München 1958
- 54) FREESE, E.: Bakteriologische und materialkundliche Untersuchung über Silberamalgame S.
Med. Diss, Göttingen 1953
- 55) FRIBERG, L. and VOSTAL, J.: Mercury in the Environment. G.R.C. Press. Cleveland 1972, zit. bei NIXON
- 56) FRYKHOLM, K.O., ODEBLAD, E.: Studies on the penetration of mercury through the dental hard tissue, using Hg^{203} in silver amalgam fillings - Acta.odont.scand. 13.157, 1955
- 57) GASSER, F.: Neue Untersuchungsergebnisse über Amalgam. Die Quintessenz 12/1976, Ref. Nr. 5543, 47-53
- 58) GETTLEMAN, L., COCKS, F.H., DARMIENTO, L.A., LEVINE, P.A., WRIGHT, S., NATHANSON, D.: Measurement of in vivo corrosion rates in baboons and correlation with in vitro tests. Script Herward School of Dental Medicine Duke University Louisiana State University
- 59) GÖTZE, W.: Zur Reizwirkung plastischer Füllungsmaterialien auf die Pulpa. - Dtsch. zahnärztl.Z. 35, 486-488, 1980
- 60) GOLDSCHMIDT, P.R.: Histamine Release and Increased Vascular Permeability induced mercuric and Silver ions. J. dent. Res. 55, B 158, Abstract N. 386, 1979
- 61) GOLDSCHMIDT, P.R., COGEN, R.B., TAUBMAN, S.B.: Effects of amalgam corrosion on human cells - J. periodontal Res. 11: 108-115, 1976
- 62) GORZO, I., NEWMAN, H.N., STRALAN, J.D.: Amalgam restorations, plaque removal and periodontal health. J. clin. Periodontol 6: 98-105, 1979
- 63) GRANATH, L.E.: Studies on mikroleakage with restorative materials. III: in vitro experiments on the sealing of 9 brands of silver amalgam - Acta Odontol. Scand. 1971, 29, 65-73

- 64) GRANATH, L.E. and MÖLLER, B.: The action of silver amalgam restorations on the human dental pulp. - Svens. Tandläk. T. 62, 311-321 (1969)
- 65) GREENE, J., SLTIP, I.I., SHAPIRO, I.: Questionnaire Utilization for Assessments of Mercury Hygiene Practice and Health. Program and Abstract of papers, 1179
- 66) GUESS, W.L., ROSENBLUTH, S.A., SCHMIDT, B. and AUTIAN, J.: Agar diffusion method for toxicity screening of plastics on cultured cell monolayers - J.Pharm. Sci.54, 1545, 1965
- 67) GUTHROW, C.E., JOHNSON, L.B. and LAWLESS, K.R.: Corrosion of dental amalgam and its component phases - J.dent.Res. Nov-Dec 1967, 1377-1381, Vol. 46, Nr. 6
- 68) HARNDT, R.: Biologische Testmethoden - Dtsch. zahnärztl.Z. 26 316-326 (1971)
- 69) HEFFERREN, J.J.: Useful of chemical analysis of head hair for exposure to mercury - JADA Vol. 92, Jan. 1976, 1213-1216
- 70) HELGELAND, K.: Biologic evaluation of some dental materials in vitro. - Diss. Univ. Oslo, A Thesis, University of Oslo 1977, I. Silicate cement in a cell culture system Co-Author LEIRSKAR, J. Scand. J.Dent. Res. 1973: 81, 251-259; IV: Uptake and Cytotoxicity of Zinc in cultures of human epithelial cells. VI: Effects of some heavy metals on protein and collagen biosynthetics in rabbit dental pulp in vitro. -Scand.J.Res. 1977, 85: 266-271
- 71) HELGELAND, K. and LEIRSKAR, J.: A further testing of the effects of dental materials on growth and adhaesion of animal cells in vitro - Scand. J. dent. Res. 1972: 80 (3), 206-212, Abstract in SB 271, 309
- 72) HOEFIG, W.: Kurzzeituntersuchungen mit dem Füllungswerkstoff Palakav. Dtsch. zahnärztl.Z. 25, 281-285, 1970
- 73) HYYPPÄ, T., PANNIO, K.: The plaque - inhibition effect of copper amalgam. - Journal of CLinic Periodontologie 4, 231-239, 1977
- 74) JAKOBSEN, N.: Epithelial - like cells in culture derived from human gingiva: response to nickel.- Scand. J. Res. 1977, 85, 567-574
- 75) JAGELLA, S.: Die Sekundärdentinanlagerung unter größeren Amalgamfüllungen mit und ohne Unterfüllung. Med. Diss. München 1960
- 76) JØERGENSEN, U.D.: Amalgame in der Zahnheilkunde, Carl-Hanser-Verlag München, Wien, 1977
- 77) JONES, D.E.: Mercury, A Review of Literature, British dent. J. 1981, 151, 145-148
- 78) KAWAHARA, H., YAMAGAMI, A., NAKAMURA, M: Biological testing of dental materials by means of tissue culture. Int.dent.J. 18, 443, 467, 1968, abstract SB 177, 293

- 79) KAWAHARA, H., NAKAMURA, M., YAMAGAMI, A., NAKANISHI, T.: Cellular Responses to Dental Amalgam in Vitro - J. Dent. Res. March-April 1945, 394-401 Vol. 54, Nr. 2
- 80) KAWAHARA, H., TOMII, S., KUSHUOKA, S., SHIOTA, M., IMAI, T., MASUKA, M.: Cellular response to Ag-Sn amalgam (in vitro), Jap.J.Conserv. Dent.1959, 2,328-334
- 81) KAWAHARA, H.: On the cytotoxicity of mercury and cadmium for dental use. Dent Outlook 37, 43, 1971
- 82) KAWAHARA, H., TOMII, S., KATO, K., TANE TAMI, K., ISOGAI, M., MIZUONO, Y., OGAWA, T., YAMAMOTO, H.: Studies on the Cytotoxic Action of Cu-Amalgam upon the fibroblasts in tissue culture - J. Jap. Soc. Dent.App. Mater, 3 16.21, 1962
- 83) KEIBEL, J.: Die Quecksilberabgabe aus Amalgamfüllungen. Neue Untersuchungsmethoden mit Hg 203 - Med. Diss. Gött. 1960
- 84) KELMAN, G.R.: Urinary mercury excretion in dental personell, Brit. J. indust.Med. 35, 262-265, zit.b. NIXON
- 85) Kellner, G. und KERESZTESI, K.: Die Wirkung metallischer Wurzelfüllmaterialien auf Zellkulturen - Dtsch. zahnärztl. Z. 20, 978-988, 1965
- 86) KETTERL, W.: Studie über das Dentin der permanenten Zähne des Menschen. - Stoma 1961, 14, 79-96, 148-163
- 87) KIMIÖKITA, TATSUO OKAMOTO, MITSU HARU AMARI, KIYOSHI TSUI and TADAO IMAMOTO: Histological and Cytological Changes of Tissue Caused by Inserted Dental Metallic Materials, Report 3, Dental Ag-Sn Amalgam - J. Osaka Dental University 1. 73-78, 1967
- 88) KLÖTZER, W.T.: Prüfung der biologischen Reaktion der lebenden Gewebe auf zahnärztliche Kunststoffe - Dtsch. zahnärztl. Z. 30, 126-131, 1975
- 89) KLÖTZER, W.T.: Verfahren zur Bestimmung der akuten lokalen Toxizität zahnärztlicher Materialien - Manuskript
- 90) KÖNIG, K.G.: Stellungnahme zur Arbeit "Quecksilberabgabe aus Amalgamfüllungen und Munddysbakterie als Ursache parodontaler Abbauerscheinungen" von T. Till, ZWR 87, H. 22, 1076-1083, 1978, ZWR 88, JG. 1979, Nr. 6, 266
- 91) KLÖTZER, W.T. und LANGE LAND, K.: Tierexperimentelle Prüfung von Materialien und Methoden der Kronen- und Brückenprothetik -Schweiz.Mschr.Zahnheilkunde 83,163(1973)
- 92) KOSKINEN, K.P., RAHKAMO, A., TUOMPO, H.: Cytotoxicity of some solutions used for root canal treatment assessed with human fibroblasts and lymphoblasts-Institute of Dentistry University of Helsinki, Jul. 1980-Scand. J. Dent. Res. 1981: 89: 71-78
- 93) KOTHE, H.: Ein Beitrag zu der Beziehung von Quecksilberdampfaufnahme und Urinausscheidung unter besonderer Berücksichtigung der Bedingungen einer zahnärztlichen Tätigkeit mit Amalgam -Diss.med. Fak. Univ.Düss. 1968

- 94) KRAUS, G.: Diffusion of Amalgam ins Dentin -
Med. Diss. München 1949
- 95) KROPP, R.: Untersuchungen über den Quecksilberdampf-
gehalt in der Luft zahnärztlicher Praxen -
Zahnärztl. Mitt. 53, 849, 1963
- 96) KROPP, R.: Die Non-Gamma-2-Amalgame. Ein wichtiger
Fortschritt zur Verbesserung des Korrosionsverhaltens
von Amalgamfüllungen - Degussa-Brief 45 (1979)
- 97) KRÖNCKE, A., GÜLZOW, H.J., MAYER, R.: Gesundheits-
gefährdung durch Quecksilber in der zahnärztlichen
Praxis? Dtsch. Zahnärzteblatt 17, 643-648, 1963
- 98) KRÖNCKE, A., OTT, K., PETSCHERT, A., SCHALLER, K.-H.,
SZECSI, M., VALENTIN, H.: Über die Quecksilberkonzentration
in Blut und Urin von Personen mit und ohne Amalgam-
füllungen. Dtsch. zahnärztl. Z. 35, 803, 1980
- 99) LAMPERT, F.: Füllungsmaterialien im Milchgebiß -
Dtsch. zahnärztl. Praxis 2/1981, 64-73
- 100) LANGE LAND, K., KLÖTZER, W.T.: Verfahren zur Prüfung
biologischer Eigenschaften zahnärztlicher Werkstoffe -
Dtsch. zahnärztl. Z. 26, 298-315, (1971)
- 101) LANGE LAND, K.: Biologische Prüfverfahren zur Beurteilung
zahnärztlicher Materialien -
Dtsch. zahnärztl. Z. 20, 1291-1299 (1965)
- 102) LANGE LAND, K.: Correlation of Screening Tests to Usage
Tests. - Journal of Endodontics 4, 10, Okt. 78, 300-303
- 103) LANGE LAND, K.: Tissue changes in the dental pulp.
An experimental histologic Study -
Odontol Tidskr. 1957, 239-386
- 104) LANGE LAND, K., DOWDEN, D.W., TRONSTAD, L., LANGE LAND, L.K.:
Human pulp changes of iatrogenic Origin -
Oral Surg 1971, 32, 943-980
- 105) LANGE LAND, K. and LANGE LAND, K.L.: Pulp reactions to
cavity and crown preparation - Aust.Dent.J. 1970, 15, 261-276
- 106) LAWRENCE, W.H., MITCHELL, J.L., GUESS, W.L., AUTIAN, J.:
Toxicity of plastics used in medical practices.
I. Investigation of tissue response in animals by certain
unit packaged polyvinyl chloride administration device -
J. Pharm. Sci. 52, 958, 1963
- 107) LEIRSKAR, J.: On the mechanism of cytotoxicity of silver
and copper amalgam in a cell culture system -
Scand. J. Dent. Res. 1974: 82, 74-81
- 108) LEIRSKAR, J., HELGELAND, K.: A methodologic study of
the effect of dental materials on growth and adhesion
of animal cells in vitro -
Scand.J.dent. Res. 1972, 80, 120-123
- 109) LEON, A.B.: Amalgam restorations and periodontal
disease - British dent. J. 1976, 140, 377-382

- 110) LIGETT, W.R., BRADY, J.M., TSAKNIS, P.J., DEL RIO, CE.:
Light microscopy, scanning electron microscopy and
microprobe analysis of bone response to zinc and non -
zinc amalgam implants - Oral.Surg. März 1980, Vol. 49,
3, 254-262
- 111) MAGNUSSON, B., BERGMANN, M., BERGMANN, B., SÖREMARK, R.:
Hypersensitivity to Nickel from Dental Restorations -
IADR Abstract 337
- 112) MAGNUSSON, B. and KLIGMAN, A.M.: The identification of
contact allergens by animal assay. The guinea pig
maximization test. - J.Invest. Dermatol 52, 268 (1969)
- 113) MAHLER, D.B., ADEY, J.D., : EYSDEN: Quantitative
Microprobe Analysis of Amalgam -
J.Dent. Res. March/April 1975, Vol. 54, 2, 218-226
- 114) MANLEY, E.B.: Investigations into the early effects of
various filling materials on the human pulp -
Dent. Rec. 1942, 62, 1-16
- 115) MANTYLA, D.G., WRIGHT, O.D.: Mercury toxicity in the
dental office: a neglected problem -
JADA Vol. 92, June 1976, 1189-1194
- 116) MARSHALL, G.W. jr., JACKSON, B.L., MARSHALL, S.J.:
Copper-rich and conventional amalgam restorations after
clinical use - JADA Vol. 100, Jan. 1980, 43-47
- 117) MARXKORS, R.: Korrosionserscheinungen an Amalgamfüllungen
und deren Auswirkungen auf den menschlichen Organismus.
Dt. Zahnärzteblatt 4, 1970, 170
- 118) MASSLER, M. and BARBER, T.K.: Action of Amalgam on dentin -
J. Amer. dent. Ass. 47, 415-422, 1953
- 119) MASSLER, M.: Effects of Filling Materials on the pulp -
J. Tennessee dent. Ass. 35, 353-374
- 120) MAYER, R., GANTNER, K.: Oberflächenvermessungen von
Amalgamfüllungen im Hinblick auf mögliche Quecksilber-
intoxikation - Dtsch. zahnärztl. Z. 35, 1073-1074, 1980
- 121) MAYER, R., DIEHL, W.: Abgabe von Quecksilber aus Amalgam-
füllungen in den Speichel -
Dtsch. zahnärztl. Z. 31, 855-859, 1976
- 122) Mc NAMARA, A., WILLIAMS, D.F.: The response to the intra-
muscular implantation of pure metals -
Biomaterials 1981, Vol. 2, Jan. 33-40
- 123) MEYER, J.M., WISCOTT, A.: Corrosion Behavior of High Copper
Amalgam - IADR Abstract Vol. 59 (Di) Nov. 80, 8
- 124) MINISTER FÜR ARBEIT, GESUNDHEIT und SOZIALES des LANDES NRW:
Der Beauftragte der Arbeitsgemeinschaft der leitenden
Medizinalbeamten der Länder - Ministerialdirigent
Dr. Femmer -: Beschluß der 109. Sitzung der Arbeitsgemein-
schaft vom 14.9.1979 - Stoffe und Zubereitungen aus Stoffen
sowie Gegenstände zur Anwendung in der Zahnheilkunde -

- 125) MITAL, M., COHEN, J.: Toxicity of metal, particles in tissue culture. Part. II: A new assay method using cell counts in the lag phase. - J. of Bone and Joint Surgery 50-A(3), 547-556, 1968, Abstract u. SB 221, 301
- 126) MITCHELL, D.F.: Irritational qualities of dental materials - J. Americ. dent. Assoc. 1959, 59, 954-966
- 127) MITCHELL, D.F., SCHANKWALKER, G.B., SHARER, S.: Determining the tumorigenicity of dental materials - J. dent. Res. 39, 1023 (1960)
- 128) MJÖR, I.A.: Biologic Assessment of restorative dental materials: Interrelationship of Biologic and Technologic Properties - Operative Dentistry 1978, 3, 9-13
- 129) MJÖR, I.A.: Histologic studies of human coronal dentine following the insertion of various materials in experimentally prepared cavities - Arch. Oral. Biol 1967, 12, 441-452
- 130) MJÖR, I.A., ERIKSEN, H.M., HAUGEN, E. and SKODEDAL, O.: Biologic assessment of copper - containing amalgams. - Int. dent. J 27, No. 77, 333-340
- 131) MJÖR, I.A., HENSTEN-PETTERSEN, A., SKODEDAL, O.: Biologic evaluation of filling materials. A comparison of results using cell culture techniques, implantation tests and pulp studies - Int. dent. Journ. 1977, Vol. 27, 2, 124-129
- 132) MOCKE, W.: Untersuchungen durch Neutronenaktivierung über den diffundierten Elementgehalt von Zähnen mit Amalgamfüllungen - Dtsch. zahnärztl. Z. 26, 657-664, 1971
Med. Diss. FU Berlin 1966
- 133) MÖLLER, B.: Reactions of the human dental pulp to silver amalgam restorations - Diss. Univ. of Lund printed in Sweden by Gotab Malmö 1979, ISBN 0348-6672
- 134) MÖLLER, B. and GRANATH, L.-E.: Reaction of the human dental pulp to silver amalgam restorations. The effect of insertion of amalgam of high plasticity in deep cavities. - Acta odont. scand. 31, 187 (1973)
- 135) MÖRMANN, J.E., MÜHLEMANN, H.R.: Synergistic in vitro inhibition of S. mutans by Zn and Hexetidine - CED 81, Nr. 33
- 136) MOFFA, J.P., OKAWA, M.T. GUCKES, A.D., LILLY, G.E.: An evaluation of nonprecious alloy for use with porcelain veneers. Part. II Industrial safety and biocompatibility - J. Prothet. Dent. Vol. 30, Nr. 4 I, 432-441
- 137) NAGEM FILHO, H., AURUJO, P.A., CHOIDI-NETTO, J., VICIRA, D.F.: Tissue reaction to dispersion alloy amalgam - J. Proth. Dent. Oct. 1976, Vol. 36, 4, 399-403

- 138) NAGEM-FILHO, H., VICIRA, D.F., AMANTE DE ARANJA, P., CHOIDI-NETTO, J.: Tissue reactions to implants composed of gold alloy and dental amalgam - J. Proth. Den. May 1975, Vol. 33, 5
- 139) NEUPERT, G., WELKER, D.: Bestimmung der Gewebeverträglichkeit stomatologischer Werkstoffe an Zellkulturen - Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde, Bd. 63, 1975, 14.2, 134-141
- 140) NASJLETI, C.E., CASTELLI, W.A., CAFESSE, R.G.: Effects of Amalgam Restorations on the Periodontal Membrane in Monkeys -J.Dent.Res. Sep. 1977, Vol.56, 9,1127-31
- 141) NILNER, K., GLANTZ, P.O.: Saliva Concentration of Amalgam Components Vis a Vis "Oral Galvinism" - IADR Abstract Nr. 46, 1255
- 142) NIXON, G.S., WHITTLE, C.A., WOODFIN, A.: Mercury Levels in Dental Surgeries and Dental Personell - British. dent. J. 1981, 151, 149
- 143) NOTHDURFT, H.: Experimentelle Sarkomauslösung durch eingeheilte Fremdkörper. Strahlentherapie 100, 192, 1956
- 144) NOWAK, L. and PUZA, V.: Einige Methoden zur biologischen Testung der stomatologischen Materialien mittels Zellkulturen - Zahn-, Mund und Kieferheilkunde 65, 1977, 859-862
- 145) NUNEZ, L.J., SCHMALZ, G., HEMBREE, J.: Influence of Amalgam, Alloy and Mercury on the in vitro growth of Streptococcus mutans - I: Biological Test System - J. dent. Res. March-April 1976, Vol. 55, 2, 257-261
- 146) NUNEZ, J.L., SCHMALZ, G., HEMBREE, J. and HULETT, L.D.: Influence of Amalgam, Alloy and Mercury on the in vitro growth of streptococcus mutans II: Comparison of Amalgams and Alloys - J. dent. Res.Sep., Oct., 1976, Vol. 55, 5, 893-899
- 147) NUNEZ, L.J., SCHMALZ, G., HEMBREE, J.: Unfluence of Amalgam, Alloy and Hg on the in vitro growth of Streptococcus mutans III: Effect of Specimen Age and Composition- J.dent.Res. Nov.-Dec. 1976, Vol. 55, 6, 1001-1003
- 148) NIGAARD-ÖSTBY, B.: Pulpareaksjoner ved Fyllinger av Selvpolymeriserende Plastmaterialer og av Amalgam. - Odont, T. 63, 173-182
- 149) OTT, K., KRÖNCKE, A.: Mercury Concentration in Blood and Urine of Patients with or without Amalgam Fillings - IADR Abstract Nr. 48
- 150) OVERDIEK, H.F.: Amalgamtätowierung der Gingiva - Zahnärztl. Rundschau 73, 1964, 351-355
- 151) PAGNOTTO, L.D., CAMRONI, E.M.: The silent hazard: an unusal case of mercury contamination od a dental suite - JADA Vol. 92, June 1976, 1195-1198
- 152) PALAGHIAS, G., SÖREMARK, R., NORD, C.E.: The effect of the Bacteroides Corrodens on some dental alloys - CED 81, Nr. 105, Abstract

- 153) PAPPAS, A.M. e.a.: Toxicity of metal Particles in tissue culture. Part I: A new Assay method using cell counts in the phase of replication -
J. of Bone and Joint Surgery SDA 3, 535-547, 1968
Abstract SB 209, 299
- 154) POTH, E.: Systematische Zusammenstellung aller in der Literatur auffindbaren Krankheitsfälle, sowohl lokaler als auch allgemeiner Art, als deren Ursache Amalgamfüllungen in der Mundhöhle genannt werden -
Med. Diss. München 1957
- 155) PUZA, V. and NOWACK, L.: Zellkulturen als Mittel für Toxizitätsteste zahnärztlicher Materialien -
Schweiz.Mschr. Zahnheilkunde 81, 1971, 75-84
- 156) REITHER, W.: Die Bedeutung endogener Faktoren für die Entstehung von Prothesenstomatopathien -
Dtsch. zahnärztl. Z. 16, 109, (1961)
- 157) REHBERG, H.J.: Stand der nationalen und internationalen zahnärztlichen Normung. 1. Normungsorganisationen -
Dtsch. zahnärztl. Z. 36, 20-24, 1981
- 158) REHBERG, H.J.: Zahnärztliche Werkstoffe und das Arzneimittelgesetz, Referat. -
- 159) REHBERG, H.J.: Zur Problematik der klinischen Prüfung von KST-Füllungswerkstoffen im Hinblick auf die Arzneimittelgesetzgebung -
Vortrag Nr. 8 Symposium 12.-14.11.1981 in Große Ledder
- 160) REHBERG, H.J.: Monographie über konventionelle Dental-Silber-Amalgame -
2. Entwurf einer Monographie für das BGA, Dez. 1981
- 161) REHBERG, H.J.: Überlegungen zur Normung der Wurzelkanalfüllungsmaterialien -
Dtsch. zahnärztl. Z. 36, 208-211, (1981)
- 162) RIETHE: Gutachten zur Frage der Nebenwirkungen bei der Versorgung kariöser Zähne mit Amalgamen -
Tübingen 1981. Forschungsinstitut des BDZ 1982
- 163) RUBINSTEIN, J.: Korrosion der unpolierten und polierten Amalgamfüllung -
Schweiz. Mschr. Zahnheilkunde 8, 647 (1963)
- 164) RÜHL, H.: Kinetics of the Zn^{2+} -stimulation of human peripheral lymphocytes in vitro - Proc.Soc.Exp.Biol. Med. 137: 1089-1092 (1971), Abstr. SB 233, 409
- 165) SARKAR, N.K., GREENER, E.H.: in vitro corrosion resistance of new dental alloys - Biomat. Med. Dev. Art. Org. 1 (1) 121-129, 1973
- 166) SARKAR, N.K., MARSHAL, G.W., MOSER, J.B., GREENER, E.H.: In vivo and in vitro corrosion Products of dental Amalgam - J. dent. Res. 1975, Vol. 54, Nr. 5, 1031-1038

- 167) SEELING, A. and LEFKOWITZ, W.: Pulp response to filling materials - NY State Dent. J. 150, 16, 540-553
- 168) SHROFF, F.R.: Effect of filling materials on the dental pulp. - NZ Dent. J. 1947, 43, 35-58
- 169) SLOTOSCH, P.: Biologische Testmethoden in der deutschsprachigen Literatur und ihre Bedeutung für die Zahnheilkunde - Diss. FU Berlin, 1972
- 170) SMITH, D.C.: Biomaterials in Dentistry - Journal of Dent. Res. Vol. 54, Spez. Issue B, B 146-152
- 171) SÖREMARK, R., WING, K., OLSSON, K., GOLDIN, J.: Penetration of metal ions from restorations into teeth - J. Prothet. dent. 1968, 20, 531-540
- 172) SOUGANIDIS, D.J., ATHANASSOULI, M.N., PAPASTATHPOULOS, D.G.: A study of in vivo Fluoride uptake by dental tissue from Fluorid-Containing Silver Amalgam, J. dent. Res. 60, 2, 105-108, Feb. 1981
- 173) SPANGBERG, LARZ, S.W.: - Symposium on Methodology and criteria in the evaluation of biologic effects of dental materials. Pulp biology group - Int. Association of Dent. Res. Copenhagen 1977
- 174) SPANGBERG, L.: Kinetic and quantitative evaluation of material toxicity in vitro - Oral Surg. Med. Path. 35, 1973, 389-401, Abstr. SB 100, 280
- 175) SPANGBERG, L., LANGE LAND, K.: Biologic effects of dental materials. I. Toxicity of root canal filling materials on HeLa cells in vitro - Oral Surg. 35, 402-414, 1973
- 176) SPANGBERG, RODRIGES, H., LANGE LAND, L., LANGE LAND, K.: Biologic effects of dental materials. II Toxicity of anterior tooth restorative materials on HeLa cells in vitro - Oral Surg. 36, 713-724, 1973
- 177) SPANGBERG, L., RODRIGES, H., LANGE LAND, K.: Biologic effects of dental materials 4. Effect of polycarboxylate cements on the HeLa cells in vitro - Oral Surg. Jan. 1974, 37, 1
- 178) SPANGBERG, L.: Biological effects of root canal filling materials. VIII Reaction of bony tissue to implanted root canal filling material in guinea pigs - Odont. T. 77, 133, 1969, Scand. J. of Dent. Res.
- 179) SVARE, C.W., PETERSON, L.C., REINHARDT, J.W., BOYER, D.B., FRANK, C.W., GAY, D.D., COX, R.D.: The Effect of Dental Amalgams on Mercury Levels in Expired Air. - J. dent. Res. 60 (9): 1668-1671, 9/81
- 180) SWERDLOW, H., STANLEY, H.R.: Response of the human dental pulp to amalgam restorations.- Oral Surg. Vol. 15, 4, 499-508 (62)
- 181) SCHIELE, R.: Quecksilber - umwelthygienische und arbeitsmedizinische Bedeutung - Vortrag vor der med. Gesellschaft Erlangen, 11.7.1979

- 182) SCHINDLER, R.: Use of cell culture in pharmacology, -
App. Rev. Pharmac. 9, 393-406, Abstr. SB 267
- 183) SCHMALZ, G.: Zellkulturen als Standardverfahren zur
Prüfung der Gewebeverträglichkeit zahnärztlicher
Materialien. - Habilitationsschrift Med.Fak. Univ.Tübingen 79
- 184) SCHMALZ, G., EURICH, K.: Biologische und physikalische
Untersuchung über ein neues Alloy zur Darstellung eines
 γ 2-freien Amalgam.-
Dtsch. zahnärztl. Z. 34, 880-884, 1979
- 185) SCHMALZ, G.: Die biologische Prüfung von Füllungs-
materialien am Göttinger Miniaturschwein -
eine Pilotstudie - Dtsch. zahnärztl. Z. 36, 357-360, 1981
- 186) SCHMALZ, G., BÜHLER, H.J.: A comparison of two biological
Screening tests for dental materials -
ADR Abstr. Nov. 80, 1
- 187) SCHMALZ, G., SCHMALZ, Ch.: Toxicity tests on dental filling
materials , Department of Restorative Dentistry, Dental
Centre, University of Tübingen, Osidianderstr. 2-8,
D 7400 Tübingen 1. Germany Vol. 31, Nr. 3
- 188) SCHNEIDER, V.: Untersuchungen zur Quecksilberabgabe aus
Silberamalgamfüllungen mit Hilfe flammenloser Atom-
absorption. Dtsch.zahnärztl. Z. 32, 475-476, 1977
- 189) SCHÖPF, E.: Transformations and mitoses of Lymphocytes
induced by mercuric (II)-chloride -
Naturwissenschaften 54, 21, 588-589, 1967, Abstr.497, 348
- 190) SCHÖPF, E., NAGY, G.: Fine structural features of lympho-
cyte transformation induced by mercuric salts -
Acta haemat. 43: 73, 1970, Abstr. SB 440, 337
- 191) SCHÖPF, E.: Investigations on lymphocyte transformation
in mercury sensitivity - Non specific transformation due
to mercury compounds -
Arch.Klin.Exp. Derm. 234, 420, 1969, Abstr. SB 180
- 192) SCHWARZE, H.: Über das Verhalten von Amalgamfüllungen im
Munde. Untersuchungen über das Eindringen von Metall-
teilchen in die Zahnhartsubstanzen mit Hilfe von Spektral-
analyse. Med. Diss. München 1951
- 193) SCHWICKERATH, H.: Werkstoffe in der Zahnheilkunde -
Verlag: Die Quintessenz, Berlin 1977
- 194) STACHNISS, V., MOTSCH, A.: Die mehrflächige Amalgam-
füllung, ZM Fortbildung H 17, 1980, 1108-1114
- 195) STANLEY, H.R.: Methods and Criteria in evaluation of dentine
and pulp response - Int.Dent. J. 20, 1970, 507-527
- 196) STÖFEN, D.: Dental-Amalgam. A poison in our mouth?
Toxicology 2, 1974, 355-358
- 197) STRABBURG, M., KNOLLE, G.: Farbatlas der Mundschleimhaut-
erkrankungen - Quintessenzverlag Berlin 1968
- 198) STRABBURG, M., KNOLLE, G.: Pigmentierungen und Tätö-
wierungen der Mundschleimhaut -
Dtsch. zahnärztl. Z. 25, 1014-1021

- 199) STRABBURG, M., SCHÜBEL, F.: Generalisierte allergische Reaktion durch Silberamalgamfüllungen.
Dtsch. zahnärztl. Z. 22, 1 3-9, 1967
- 200) THER, L.: Grundlagen der experimentellen Arzneimittelforschung - Wiss. Verlagsgesellschaft Stuttgart 1965
- 201) TILL, T.: Ätiologie der infektiösen Parodontopathien?
ZWR 86. Jahrg. 1977, Nr. 4
- 202) TILL, T.: Quecksilberabgabe aus Amalgamfüllungen und Munddysbakterie als Ursache parontaler Abbauerscheinungen -
ZWR 87. Jahrg. Nr. 22, 1076-1083
- 203) TILL, T., MALY, K.: Quecksilber in Zahnwurzeln und Kieferknochen - ZWR 87. Jahrg. 1978, Nr. 6
- 204) THOMMEN, D.H.: Amalgam-Invasion aus der Kavität in das Dentin- und Pulpagewebe -
Diss. Med. Fak. Zürich, 1972
- 205) TRIVEDI, S.C., TALIAN, S.T.: The response of human gingiva to restorative materials -
J. Proth. Dent. Jan. 1973, Vol. 29, 1, 73-80
- 206) TRONSTADT, L., WENNBERG, A., HASSELGREEN, G.: Screening tests for dental materials -
J. End. 1978, 4, 304-307
- 207) TSUTSUMUI, M.: Studies on the Cytotoxic Action of Dental Amalgam upon L Strain Cells in Vitro -
J. Osaka Odontol. Soc. 34, 1971, 765-775
- 208) TYAS, M.J.: Toxicity evaluation of dental filling materials using cell culture -
Session 2.1 Evolution of Biomaterials Straßburg 26, 28.9.77
- 209) UHLIG, H.: Wanderung von Amalgamteilchen durch das Dentin vitaler Zähne- Med. Diss. Leipzig, 1936
- 210) USCHATZ, J. Geben Amalgame Quecksilber ab?
Diss. med. Fak. Bern 1952
- 211) VAIDYANATHAN, T.K., PRASAD, A.: In vitro corrosion and tarnish characterization of typical dental gold compositions -
J. of Biomed. Materials Res. Vol. 15, 1981, 191-201
- 212) VALLEE, B., ULMER, D.: Biochemical effects of mercury, cadmium and lead - Ann. Rev. Bioch. 44, 91-103, 1972
- 213) VIOHL, J.: Histologische Reaktionen der Hundepulpa auf Füllungen aus Palakav -
Dtsch. zahnärztl. Z. 25, 379-389, 1970
- 214) VOGEL, Chr.: Arzneimittelnebenwirkungen in der Mundhöhle,
ZWR 87, 1978, 21, 1024-1030
- 215) VIVADENT INFORMATION: Technische Information über Amalgam-non-gamma-2
- 216) WALLACE, L., GUESS, S., ROSENBLUTH, A., SCHMID, B., AUTIAN, J.: Agar diffusion Method for toxicity screening of plastic on cultured cell monolayers -
J. of Pharmac. Science, Vol. 54, 10, Oct. 1965, 1545-1547

- 217) WALTZ, A., PATERSON, R.C.: Simple compounds as pulp capping agents -
Oral Surg. Dec. 1979, 561-563
- 218) WEIKART, P.: Werkstoffkunde für Zahnärzte -
4. Auflage, München, Hauser-Verlag, 1966
- 219) WENDEBORN, H.: Metallablagerungen im Zahnhartgewebe amalgamgefüllter Zähne. Med. Diss. Leipzig 1934
- 220) WERNER, U.: Verteilung und Lokalisation abgewanderter Amalgamteilchen im Zahnhartgewebe -
Med. Diss. Leipzig 1935
- 221) WHITE, R.R., BRANDT, R.L.: Development of mercury hypersensitivity among dental students -
JADA Vol. 92, June 1976, 1204-1207
- 222) WIRZ, J., CASTAGNOLA, L.: Quecksilberdämpfe in der zahnärztlichen Praxis -
Schweiz. Mschr. Zahnheilkunde 87 570 (1977)
- 223) WOODY, R.D., HUGET, E.F., HORTON, J.E.: Apparent Cytotoxicity of Base Metal Casting Alloys -
J. Dent. Res. 56(7) 739-743
- 224) WREDE, D.: Untersuchungen über die Quecksilberdampfverteilung in zahnärztlichen Behandlungsräumen im Zusammenhang mit der Verarbeitung von Silberamalgamen -
Diss. med. Fak. Düsseldorf 1966
- 225) YAMAGAMI, A., YAMANAKA, K., HISADA, T., OOTA, M., KAWAHARA, H.: Cytochemical study on the toxicity of metal mercury by means of cell culture -
J. Jap. Soc. Apparatus Mater 10.87, 1969
- 226) ZARTNER, R.J., JAMES, G.A., BURCH, B.S.: Bone tissue response to zinc polycarboxylate cement and zincfree Amalgam -
J. Endod 2 (7) 203-207, July 1976/11
- 227) ZEMKE, H.H.: Untersuchungen zur Toxizitätsprüfung von Dentalamalgamen in menschlichen embryonalen Fibroblasten -
Diss. med. Fak. Düsseldorf 1980

Tabellarischer Lebenslauf

Name, Vorname: Kracht, Volker

Geburtstag: 9. September 1944

Geburtsort: Petershagen/Weser

Eltern: Realschulkonrektor Otto Kracht
Schulsekretärin Ursula Kracht
geb. Bohnenberg

Ehefrau: Monika Kracht, geb. Süsselbeck
Ausbildungsleiterin bei Horten AG

verheiratet seit: 20. Juli 1972

Schulen: Volksschule Petershagen
Staatliches Aufbaugymnasium Petershagen
Abitur 1965

Wehrdienst: 1965-1968 Truppenteil Heeresflieger
Letzter Dienstgrad: Leutnant

Berufsausbildung: -Mai 1968 bis März 1970
HORTEN AG - Praktikantenausbildung;
Prüfung Einzelhandelskaufmann und
Sonderausbildung Führungsnachwuchs
-März 1970 bis November 1970
Ausbildung zum Verwaltungsassistenten;
-währenddessen: von September 1969 bis
Juni 1970 Innenrevisor in verschiedenen
Zweigniederlassungen der HORTEN AG
-November 1970 bis November 1974
Einsatz als Verwaltungsassistent und
Personalassistent in verschiedenen
Zweigniederlassungen der HORTEN AG.
-Dezember 1974 bis Oktober 1977
verantwortlicher Mitarbeiter der
Verkaufsabteilung bei der Firma E. Bonn,
Waschmaschinenfabrik, Duisburg
-seit Oktober 1977 Studium der
Zahnmedizin an der Universität
Düsseldorf
-Examen Oktober 1982

Offsetdruck Böttger
Dissertationen & Reprints
Salzweg 18
3 Hannover-Badenstedt (01)
Tel. (0511) 49 22 22